ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME I *N° 4* *DÉCEMBRE 1928*

MÉMOIRES ORIGINAUX

RECHERCHES SUR LE ROLE DES PLAQUETTES SANGUINES DANS L'IMMUNITÉ LA FONCTION ANTIXÉNIQUE DES PLAQUETTES

par

Cornelia POPESCO-COMBIESCO

(TRAVAIL DE L'INSTITUT DE SÉRUMS ET VACCINS
ET DU LABORATOIRE DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE DE BUCAREST.)

(Premier Mémoire)

Les plaquettes sanguines signalées pour la première fois par Donné (1844) et dénommées par lui « globulins » furent découvertes par Hayem en 1877. Depuis lors, ces éléments du sang ont fait l'objet d'une série de recherches, tant sur leur origine que sur leur physiologie. On a réussi à établir que les plaquettes représentent un élément constant dans le sang des mammifères, qu'elles participent à l'hémostase spontanée, à la coagulation du sang et à la rétraction du caillot. On leur attribue un rôle dans le choc anaphylactique. Nos connaissances sur la fonction antixénique des plaquettes et sur leur rôle dans l'immunité naturelle ou acquise sont de date tout à fait récente.

La première chose qui a frappé les observateurs (Hayem, Bizzozero, Sahly, etc.), c'est que les plaquettes s'agglutinent très facilement entre elles et qu'elles adhèrent très vite à la surface des corps étrangers avec lesquels elles viennent en contact. Le même phénomène a été observé *in vivo*. En inoculant les vibrions cholériques sensibilisés dans le torrent circulatoire, Levaditti (1901) a constaté que très rapidement une partie des vibrions sont

englobés par les polynucléaires et qu'une autre partie adhère aux plaquettes. Il observa le même phénomène quatre années plus tard avec les hématies nucléées.

Aynaud (1911) a vu de même que, si l'on ajoute *in vitro* au sang une émulsion microbienne, dix minutes plus tard les plaquettes commencent à s'agglutiner en masses considérables au sein desquelles les microbes et les leucocytes sont englobés. Ce même savant a constaté que *in vivo* une injection de différents microbes est suivie de leucopénie et de thrombopénie ; on trouve les plaquettes et les leucocytes dans le foie. Aynaud n'a fait aucune liaison entre ce fait et l'élimination des micro-organismes circulant dans le sang.

Les recherches de Delrez et Govaerts (1918), de Govaerts (1918-1921), ont établi le rôle important que jouent les plaquettes dans la série des processus antimicrobiens. Si l'on inocule dans le torrent circulatoire des microbes avirulents ou très peu virulents pour l'animal sur lequel on expérimente, les microbes sont immédiatement agglutinés et les grumeaux sont éliminés. Il s'ensuit une leucopénie et une thrombopénie passagère. On retrouve ces grumeaux dans le foie, les poumons, la rate et beaucoup moins dans les reins. On observe le même phénomène quand on inocule les hématies d'homme ou d'oiseau ou des particules inertes d'encre de Chine. Bien plus : cet auteur a constaté que, si on inocule des plaquettes lavées dans les veines d'un animal qui avait été injecté préalablement avec une émulsion microbienne (para *B*), le nombre des microbes inoculés décroît plus rapidement que chez un animal témoin. Si, dans de pareilles recherches, on se sert de microbes virulents pour l'animal en expérience, l'emplaquettement ne se produit plus, le nombre des micro-organismes du sang circulant croît et l'animal succombe à une septicémie. D'après l'auteur de ces expériences, il en résulterait que les plaquettes auraient un rôle comparable en partie à celui des leucocytes. Leur intervention est plus rapide à se produire, car leurs actions s'exercent dans la grande circulation. D'ailleurs, d'après les expériences de Govaerts (1920-1922), confirmées par Le Fèvre d'Aric (1920), l'emplaquettement se produit dans les mêmes conditions que la phagocytose. L'accolement de particules étrangères aux plaquettes est conditionnée par l'opsonisation de ces particules. Cette opsonisation est suivie de l'agglutination des plaquettes à la surface opsonisée. Des expériences faites par Roskam (1923) *in vitro,* il résulterait que le phénomène de l'emplaquettement serait passif. L'emplaquettement ne dépend pas de la vie des pla-

quettes, mais seulement de l'intégrité de la couche plasmatique qui adhère à leur surface.

C. Bull et Clara Mac Kee (1915, 1916-1922) admettent que le rôle principal dans l'élimination des microbes du sang revient aux agglutinines normales et acquises. Quand les agglutinines sont en grande quantité, même chez les animaux normaux, on observe que tout d'abord se produit une agglutination des bactéries et que ce n'est qu'ensuite que les grumeaux s'accolent aux plaquettes. D'après ces auteurs, quand le titre agglutinant est très faible chez les animaux normaux, l'emplaquettement des microbes est le phénomène initial. Les microbes introduits dans la circulation sont opsonisés ; de la sorte, ils adhèrent les uns aux autres, ainsi qu'aux plaquettes, puis plus tard aux endothélia des capillaires du foie, de la rate et du poumon. Quand le microbe est virulent, l'opsonisation n'a plus lieu ; le microbe ne disparaît pas de la circulation et, au contraire, il continue à se multiplier en déterminant la septicémie. Ainsi l'emplaquettement *in vivo* est un des moyens de la lutte de l'organisme contre les particules étrangères qui ont pénétré dans la circulation. Cet emplaquettement ne se produit que grâce à l'opsonisation de ces particules.

Cette fonction « antixénique » des plaquettes, ainsi que Govaerts l'a dénommée, donnait le droit de supposer qu'elle devait être plus évidente avec les plaquettes des animaux immunisés. Or, ce n'est pas le cas dans les expériences de Marie Richter (1921). Cet auteur a travaillé avec le sang total ou le plasma citraté très riche en plaquettes qui provenaient de lapins immunisés contre le staphylocoque ou le streptocoque. Marie Richter n'est pas arrivée à observer le phénomène d'accolement des microbes aux plaquettes. Comme ses résultats étaient en contradiction avec ceux obtenus par Delrez et Govaerts dans leurs premières recherches, ces derniers savants ont répété ses expériences. Chez les animaux immunisés contre le staphylocoque, ils ont confirmé l'absence de l'accolement des microbes aux plaquettes tant qu'ils ont travaillé d'après la méthode de M. Richter, c'est-à-dire l'observation entre lame et lamelle. Cette absence d'accolement dans le cas de M. Richter pourrait être expliqué par l'immobilité des éléments maintenus entre deux surfaces étroitement appliquées l'une contre l'autre, car, d'après Delrez et Govaerts, le phénomène se produit avec une intensité et une rapidité extrême si le mélange est fait dans un tube à essais.

Quant à l'hypothèse d'une participation des plaquettes sanguines dans les processus d'immunité, les recherches faites

jusqu'à présent ont donné surtout des résultats négatifs.

Tatarinoff, étudiant la variation du nombre des hématies, des leucocytes et des plaquettes au cours de l'immunisation des lapins avec le bacille typhique, *coli*, par rapport aux modifications du titre agglutinant du sérum, n'a pas réussi à démontrer la participation des plaquettes à l'élaboration des anticorps spécifiques. Studizki fait des recherches sur les propriétés des différents éléments du sang de cheval immunisé contre le staphylocoque et contre l'érysipèle et trouve les anticorps seulement dans le plasma ou dans le sang total citraté. Les plaquettes, et surtout les hématies, sont presque complètement dépourvues de ces anticorps. Schneider, travaillant avec des extraits de plaquettes, ne peut pas mettre en évidence l'action hémolytique et bactéricide de ces extraits. Aynaud, de même, ne peut pas trouver de traces d'alexine ou d'hémolysine dans les plaquettes déplasmatisées de l'homme, du chien ou du cheval.

Ce qui semble bien établi, d'après les expériences de Gruber et Futaki, c'est que les plaquettes de certains animaux (rats, lapin, cheval) contiennent une substance bactéricide pour la bactéridie charbonneuse, le bacille subtilis, le bacille mesentericus. Cette substance est connue sous le nom de *plakanthracocidine*.

RECHERCHES PERSONNELLES

I

Du pouvoir empêchant des plaquettes sanguines sur la staphylolysine.

Au cours des recherches sur la staphylolysine et sur l'immunisation des lapins contre cette toxine, nous avons essayé de déterminer si les plaquettes sanguines des lapins normaux ou immunisés, débarrassées par lavages du plasma, ont la faculté d'empêcher l'action lytique de la staphylolysine.

Notre staphylolysine a été préparée et titrée d'après la méthode de Walbum, en employant des races de staphylocoques *(st. aureus)* virulents pour le lapin. Après de multiples essais, nous avons obtenu une hémolysine très active, la dose hémolytique minima variant, après six jours à l'étuve à 37°, entre 0 cc. 03 et 0 cc. 2. Dans le but de préparer un sérum antistaphylolytique, nous avons inoculé avec ces staphylolysines une série de lapins, les uns par voie intramusculaire, les autres par voie intraveineuse,

en commençant par 1 centimètre cube de toxine pour la voie intramusculaire et 0 cc. 5 pour la voie intraveineuse, puis l'on augmente progressivement jusqu'à 9 centimètres cubes, en pratiquant les inoculations à intervalles réguliers de cinq jours.

Les résultats sont très différents selon la voie employée. Tandis que les lapins immunisés par voie intramusculaire ont donné après un mois, à la saignée d'épreuve, une antistaphylolysine d'un titre cinquante et jusqu'à cent fois plus élevé que celui du sérum normal, le pouvoir antilytique du sérum des lapins immunisés par voie intraveineuse était à peine supérieur à celui des lapins normaux.

Toutes nos expériences furent faites avec le sérum des lapins inoculés par voie intramusculaire. Pour recueillir les plaquettes, les lapins étaient saignés à blanc par la carotide dans des tubes paraffinés. Ensuite on décantait le sang dans d'autres tubes paraffinés qui contenaient une quantité suffisante d'oxalate de soude à 1/100 pour obtenir une dilution de 1/1000 jusqu'à 1/2000 dans le sang. Nous agitions bien le sang et puis le répartissions dans des tubes longs et étroits, paraffinés. On le laissait sédimenter pendant une nuit à la température du laboratoire. Le lendemain, le plasma surnageant, riche en plaquettes, était récolté et les plaquettes étaient déplasmatisées d'après la méthode aujourd'hui classique d'Aynaud. Les plaquettes ainsi obtenues étaient lavées deux fois avec du sérum physiologique oxalaté, et finalement émulsionnées dans un volume de sérum physiologique égal au plasma décanté.

Voici un tableau résumant l'une de nos expériences :

TABLEAU N° I

Staphylolysine	Emulsion de plaquettes immunisées	Emulsion de plaquettes normales	Sérum normal	Sérum antistaphylolytique	Emulsion d'hématies de lapin 2%	Résultats
0,06 cc.	1,5 cc.	—	—	—	5 cc.	Hémolyse partielle 50
0,06 cc.	1,5 cc.	—	0,1 cc.	—	5 cc.	id
0,06 cc.	1,5 cc.	—	—	0,001 cc.	5 cc.	»
0,06 cc.	—	1,5 cc.	—	0,001 cc.	5 cc.	»
0,06 cc.	—	1,5 cc.	—	0,003 cc.	5 cc.	0
0,06 cc.	—	1,5 cc.	0,1 cc.	—	5 cc.	Hémolyse partielle 50
0,06 cc.	—	1,5 cc.	0,1 cc. sér. 56°	—	5 cc.	id
0,06 cc.	—	—	—	—	5 cc.	Hémolyse totale
0,06 cc.	—	—	—	0,003 cc.	5 cc.	0
0,06 cc.	—	—	1 cc.	—	5 cc.	Hémolyse totale
—	—	—	—	—	5 cc.	0

Le sérum de l'animal immunisé, chauffé trente minutes à 56° et préalablement titré, empêche l'hémolyse par la staphylolysine à la dose de 0 cc. 003. Le sérum normal employé n'empêche pas l'hémolyse à la dose de 1 centimètre cube. Le mélange staphylolysine-plaquettes-sérum était laissé trente minutes à 37°, puis l'on ajoutait les globules rouges et on replaçait le tout à 37° pendant une heure et demie. Les tubes étaient conservés à la glacière jusqu'au lendemain matin ; à ce moment, on faisait la lecture des résultats. On mesurait le degré de l'hémolyse à l'aide d'une échelle colorimétrique établie de la manière suivante : un mélange de 1 centimètre cube de globules rouges de lapin lavées et 119 centimètres cubes d'eau distillée donne une hémolyse totale. On a ainsi l'hémolyse qu'on va noter avec le chiffre 100. Par des dilutions successives, on obtient des nuances d'intensité décroissante qu'on va marquer avec 95, 90, etc.

Il résulte de l'ensemble de nos expériences que les plaquettes lavées de lapin normal exercent une action empêchante marquée sur l'hémolyse par la staphylolysine, soit en présence ou en absence du sérum. Cette propriété, fixatrice des plaquettes sur la staphylolysine ne paraît pas augmenter chez les lapins immunisés. Tandis que le sérum de ces derniers acquiert un pouvoir antagoniste très élevé, leurs plaquettes fixent la toxine, mais ni plus ni moins que chez le lapin normal. Le sérum normal, aussi bien que le sérum immun en quantités non empêchantes, ne sont pas capables d'augmenter l'action des plaquettes isolées.

II

Sur les propriétés antivibrioniennes des plaquettes du sang.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons cherché les propriétés antivibrioniennes du sang et de l'extrait de plaquettes provenant d'un lapin normal ou d'un lapin immunisé.

Nous avons choisi le vibrion cholérique parce que, sous l'influence de la bactériolysine, il se transforme très vite en granules, ce qui fait que les résultats sont beaucoup plus évidents qu'avec n'importe quel autre micro-organisme. Nous avons travaillé avec

un vibrion cholérique souche Pasteur de l'Institut Pasteur de Paris.

Technique générale. — Nous donnons ici la technique dont nous nous sommes servi pour l'immunisation des lapins et pour le lavage des plaquettes obtenues. C'est cette technique que nous avons suivie dans toutes nos expériences faites avec le vibrion cholérique. Pour immuniser les lapins contre le vibrion cholérique, nous leur faisions six injections successives, ; les deux premières avec des vibrions tués par la chaleur, l'une dans le péritoine, la seconde dans la veine auriculaire à vingt-quatre heures d'intervalle; les quatre autres avec des vibrions vivants dans la veine auriculaire à deux jours d'intervalle (à chaque injection 1/10 de culture sur gélose de vingt-quatre heures émulsionnée dans 1 centimètre cube de solution physiologique). Les lapins étaient saignés huit jours après la dernière injection, leur sang était recueilli dans des tubes paraffinés contenant une solution oxalatée calculée de façon à avoir un mélange total oxalaté de 1/1.000 à 2/1.000. Les plaquettes étaient séparées par la méthode classique (Aynaud), centrifugées, lavées quatre fois avec la solution physiologique oxalatée à 2/1.000. L'expérience était faite le jour même de la récolte des plaquettes. La technique des mélanges *in vitro* a été celle indiquée par Govaerts (1920).

Première expérience (faite sur un lot de six lapins immunisés). — Les plaquettes d'un lapin immunisé, dont le sérum agglutinait en trente minutes les vibrions cholériques en dilution jusqu'à 1/10.000 et fixait le complément en dilution à 1/2.000, lavées quatre fois, étaient émulsionnées dans 2 centimètres cubes de sérum physiologique. Comme émulsion vibrioniennne, nous employons une culture de vingt-quatre heures sur gélose émulsionnée dans 10 centimètres cubes de solution physiologique. Les mélanges faits étaient laissés quarante minutes à 37°. Comme témoins, nous nous sommes servi toujours de plaquettes normales lavées deux fois.

Après séjour des mélanges à 37°, nous prélevions une goutte de chacun qui était examinée au microscope après étalement sur lame et coloration au May-Grünwald panchromatique.

Les émulsions de plaquettes normales ou immunisées, additionnées de solution physiologique et d'émulsion vibrionienne, montrent çà et là la formation de petits paquets de plaquettes et de vibrions agglutinés ensemble, la majorité des plaquettes et des vibrions restant en suspension et à l'état dispersé.

En remplaçant 0 cc. 3 de solution physiologique par 0 cc. 3 de sérum frais de lapin (1), une différence considérable apparaît entre les plaquettes normales et celles de l'animal immunisé. Les premières se réunissent en gros ballots qui agglutinent en masse les vibrions cholériques ; cependant, un certain nombre de plaquettes et de vibrions échappent à l'action agglutinante et demeurent à l'état dispersé. A l'intérieur des plaquettes agglutinées, on ne constate aucune transformation granulaire des vibrions. Au contraire, dans le cas des plaquettes provenant d'un animal immunisé, l'agglutination est totale. De plus, à l'intérieur des amas de plaquettes, une transformation des vibrions en granules de Pfeiffer se produit très rapidement, en même temps qu'une lyse des plaquettes elles-mêmes se produit, débutant du centre de l'amas et s'étendant rapidement vers la périphérie.

Deuxième expérience. — Dans certains cas, les plaquettes provenant de l'animal immunisé étaient lavées sept fois. Après le deuxième, le troisième, le cinquième et le septième lavage, nous retenions des fractions de l'émulsion des plaquettes. Chaque fois, l'émulsion des plaquettes était additionnée de sérum frais de lapin et de l'émulsion vibrionienne. Après un séjour de quarante minutes à 37°, nous faisions le même examen que dans l'expérience précédente. A cette occasion, nous avons constaté que les plaquettes provenant de certains animaux immunisés, lavées trois, cinq ou sept fois, en présence de sérum frais de lapin, agglutinent complètement les vibrions ; mais ils ne sont transformés en granules que partiellement (fig. 1). Si, dans les mêmes expériences, les échantillons des plaquettes lavées trois, cinq ou sept fois sont chauffés trente minutes, soit à 56°, soit à 74°, et ensuite additionnés de sérum frais de lapin et de l'émulsion vibrionienne, après un séjour de quarante minutes à 37° les résultats sont différents : les plaquettes lavées trois fois et chauffées à 56° se sont agglutinées complètement en gros ballots dans lesquels est englobée la presque totalité des vibrions. La transformation granulaire est partielle. *Les plaquettes lavées cinq fois et chauffées à 56° se sont agglutinées complètement en gros ballots dans lesquels tous les vibrions sont englobés. Tous les vibrions ont été transformés en granules (fig. 2).*

(1) Le sérum frais est parfois par lui-même lysant pour les vibrions cholériques : nous n'avons employé pour nos expériences que des sérums chez lesquels nous avions préalablement constaté l'absence de propriétés lysantes.

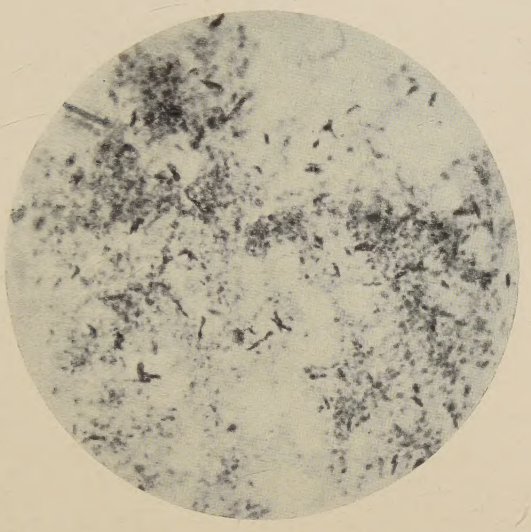


FIG. 1. — Plaquettes immunisées lavées cinq fois, additionnées de sérum frais de lapin et d'émulsion vibrionienne. (Exp. II.)

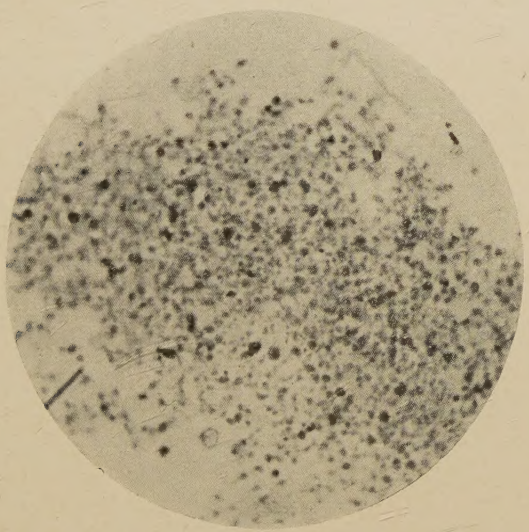


FIG. 2. — Plaquettes immunisées lavées cinq fois, chauffées à 56°, additionnées de sérum frais de lapin et d'émulsion vibrionienne. (Exp. II.)

Si, au lieu de ne laver les plaquettes que cinq fois, on les soumet à sept lavages successifs en les chauffant ensuite trente minutes à 56°, l'agglutination se produit bien ; mais la transformation granulaire n'est que partielle. Les plaquettes lavées cinq ou sept fois et chauffées trente minutes à 74°, s'agglutinent encore en petits grumeaux au milieu desquels on trouve une petite partie des vibrions intacts, la majorité des vibrions et des plaquettes étant dispersés. Cette expérience est résumée dans le tableau n° III (fig. 3, 4).

Il résulterait de cette expérience que les plaquettes retiennent une partie des anticorps et qu'elles ne mettent ces dernières en liberté qu'après un chauffage à 56° ou après un grand nombre de lavages successifs.

Troisième expérience. — Dans cette expérience, au lieu de laver nos plaquettes, nous les avons laissées dans leur propre plasma pendant vingt-quatre heures à la glacière (ces plaquettes non chauffées, prove-

TABLEAU N° II

Emulsion de plaquettes immunisées	Emulsion de plaquettes normales	Oxalate de soude à 1/1000e	Sérum physiologique à 9/1000e	Sérum frais lapin	Sérum lapin à 56°	Liquide du 3e lavage	Liquide du 4e lavage	Emulsion vibrionienne	Agglutination des plaquettes et emplaquettement	Transformation granulaire
0,1 cc.	—	0,3 cc.	—	—	—	—	—	0,1 cc	Partielle	0
0,1 cc.	—	—	0,3 cc.	—	—	—	—	0,1 cc	Partielle	0
0,1 cc.	—	—	—	0,3 cc.	—	—	—	0,1 cc	Totale	Complète
0,1 cc.	—	—	—	—	0,3 cc.	—	—	0,1 cc	Partielle	0
—	0,1 cc.	0,3 cc.	—	—	—	—	—	0,1 cc	»	0
—	0,1 cc.	—	0,3 cc.	—	—	—	—	0,1 cc	»	0
—	0,1 cc.	—	—	0,3 cc.	—	—	—	0,1 cc	Presque totale	0
—	0,1 cc.	—	—	—	0,3 cc.	—	—	0,1 cc	Partielle	0
—	—	—	—	0,3 cc.	—	—	—	0,1 cc	Petits grumeaux de 2 à 5 vibrions	0
0,1 cc.	—	—	—	—	0,3 cc.	—	—	0,1 cc	0	0
—	0,1 cc.	—	—	0,3 cc.	—	0,5 cc.	—	0,1 cc	Partielle	0
—	0,1 cc.	—	—	0,3 cc.	—	—	0,5 cc.	0,1 cc	0	0
—	—	—	0,3 cc.	—	—	—	—	0,1 cc	0	0
0,1 cc.	—	0,3 cc.	—	—	—	—	—	—	0	0
0,1 cc.	—	—	0,3 cc.	—	—	—	—	—	0	0
0,1 cc.	—	0,3 cc.	—	0,3 cc.	—	—	—	—	0	0

FIG. 3. — Plaquettes immunisées lavées cinq fois, chauffées à 74°, additionnées de sérum frais de lapin et d'émulsion vibrionienne. (Exp. II.)

FIG. 4. — Plaquettes immunisées lavées cinq fois, additionnées d'émulsion vibrionienne, sans sérum frais de lapin. (Exp. II.)

TABLEAU N° III

Plaquettes immunisées lavées trois fois	Plaquettes immunisées lavées cinq fois	Plaquettes immunisées lavées sept fois	Liquide du 3e lavage	Liquide du 5e lavage	Liquide du 7e lavage	Sérum frais lapin	Sérum 56°	Emulsion vibrionienne	Agglutination Emplaquettement	Transformation granulaire
0,1 cc.	—	—	—	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Totale	Très réduite
0,1 cc.	—	—	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Partielle	0
0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Totale	Partielle
0,1 cc. chauffées 74°	—	—	—	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Partielle	0
—	0,1 cc.	—	—	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Totale	Très réduite
—	0,1 cc.	—	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Partielle	0
—	0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Totale	Totale
—	0,1 cc. chauffées 74°	—	—	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Partielle	0
—	—	0,1 cc	—	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Totale	Très réduite
—	—	0,1 cc	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Partielle	0
—	—	0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Presque totale	Partielle
—	—	0,1 cc. chauffées 74°	—	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Très faible	0
—	—	—	0,2 cc.	—	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	Très faible	0
—	—	—	—	0,2 cc.	—	0,2 cc.	—	0,1 cc.	0	0
—	—	—	—	—	0,2 cc.	0,2 cc.	—	0,1 cc.	0	0

TABLEAU N° IV

Plaquettes immunisées lavées trois fois	Plaquettes immunisées lavées cinq fois	Plaquettes immunisées lavées sept fois	Liquide du 3e lavage	Liquide du 5e lavage	Liquide du 7e lavage	Sérum frais lapin	Emulsion vibrionienne	Agglutination Emplaquettement	Vibriolyse
0,1 cc.	—	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Presque totale	Presque complète
0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Totale	Complète
0,1 cc. chauffées 74°	—	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Partielle	0
—	0,1 cc.	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Presque totale	Presque complète
—	0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Totale	Complète (fig. 5)
—	0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	—	—	0,1 cc.	Presque nulle	0 (fig. 6)
—	0,1 cc. chauffées 74°	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Petits grumeaux incomplète	0
—	0,1 cc. chauffées 74°	—	—	—	—	—	0,1 cc.	Presque nulle	0
—	—	—	0,1 cc.	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Presque nulle	0
—	—	—	—	0,1 cc.	—	0,2 cc.	0,1 cc.	0	0
—	—	0,1 cc.	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Presque totale	0
—	—	0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Totale	Presque complète
—	—	0,1 cc. chauffées 74°	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Partielle	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(1) Les plaquettes chauffées au-dessous de 70° donnent encore la transformation granulaire des vibrions.

TABLEAU N° V

Emulsion plaquettes sensibilisées lavées deux fois	Emulsion plaquettes sensibilisées lavées trois fois	Emulsion plaquettes sensibilisées lavées cinq fois	Liquide du 2e lavage	Liquide du 3e lavage	Liquide du 5e lavage	Sérum frais	Emulsion vibrionienne	Agglutination Emplaquettement	Vibriolyse
0,1 cc.	—	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Presque complète	Presque complète
0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	»	»
—	0,1 cc.	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	»	Presque nulle
—	0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	»	»
—	0,1 cc. chauffées 74°	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	»	0
—	—	0,1 cc.	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Complète	Presque complète
—	—	0,1 cc. chauffées 56°	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	»	»
—	—	0,1 cc. chauffées 74°	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Très faible	0
—	—	—	0,1 cc.	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Agglutination intense des vibrions	Très forte
—	—	—	—	0,1 cc.	—	0,2 cc.	0,1 cc.	Agglutination faible	Très faible
—	—	—	—	—	0,1 cc.	0,2 cc.	0,1 cc.	0	0
—	—	—	—	—	—	0,2 cc.	0,1 cc.	0	0

nant d'un animal faiblement immunisé, ne donnaient plus la transformation granulaire après le troisième ou le cinquième lavage). Le lendemain, les plaquettes ainsi gardées à la glacière étaient centrifugées et lavées sept fois; nous avions soin de prélever des échantillons après le troisième, le cinquième et le septième lavage. En répétant l'expérience du tableau n° III, les résultats obtenus ont été ceux donnés par le tableau IV ci-dessus et les figures 5 et 6 ci-après.

Il résulte de ces expériences que, si les plaquettes provenant d'un animal immunisé lavées trois et cinq fois perdent leurs propriétés vibriolytiques, elles regagnent ces propriétés si on les laisse pendant vingt-quatre heures en contact avec leur propre plasma. L'emplaquettement et la vibriolyse est tout aussi forte dans ce cas avec les plaquettes non chauffées ou chauffées à 56°, alors que les vibrions cholériques sont opsonisés. Tout se passe dans ce cas comme si ces plaquettes s'étaient chargées au contact de leur plasma d'anticorps (vibriolysine et agglutinine) contenus dans ce dernier.

Quatrième expérience. — Il était intéressant de voir si les plaquettes provenant d'un lapin normal dont le sérum ne possède aucune action vibriolytique acquièrent le pouvoir vibriolytique lorsqu'on leur ajoute du sérum anticholérique.

Les plaquettes provenant d'un lapin normal sont laissées dans leur plasma, auquel on ajoutait du sérum anticholérique en proportion de 1 centimètre cube de sérum pour 9 centimètres cubes de plasma. Le mélange était laissé vingt-quatre heures à la glacière, puis les plaquettes étaient lavées. L'expérience était disposée comme on la voit dans le tableau n° V.

On voit, d'après le tableau précédent, que les plaquettes provenant d'un animal normal laissées dans leur plasma additionné de sérum anticholérique ont été capables d'absorber une certaine quantité d'anticorps. En effet, les plaquettes lavées cinq fois et employées telles quelles ou bien chauffées à 56° sont capables de transformer en grande partie les vibrions en granules. La transformation granulaire n'est jamais si complète que dans les expériences faites avec les plaquettes provenant d'un animal immunisé (fig. 7, 8, 9).

On n'observe pas les mêmes phénomènes si l'on se sert de plaquettes qu'on sensibilise après les avoir lavées deux fois. Aux plaquettes lavées deux fois, on ajoute du sérum physiologique en quantité égale à celle du plasma décanté et du sérum anticholé-

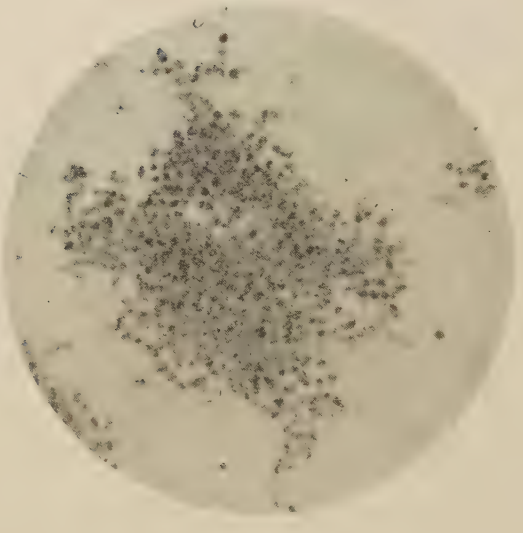


Fig. 5. — Plaquettes immunisées laissées dans leur propre plasma pendant vingt-quatre heures, lavées cinq fois, chauffées à 56°, additionnées de sérum frais de lapin et d'émulsion vibrionienne. (Exp. III.)

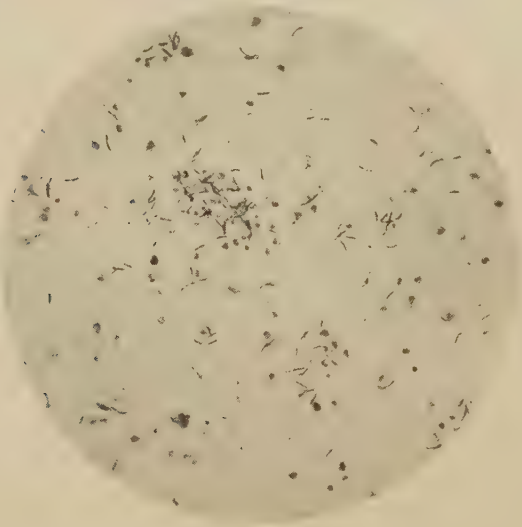


Fig. 6. — Plaquettes immunisées laissées dans leur propre plasma pendant vingt-quatre heures, lavées cinq fois, chauffées à 56°, additionnées d'émulsion vibrionienne sans sérum frais. (Exp. III.)

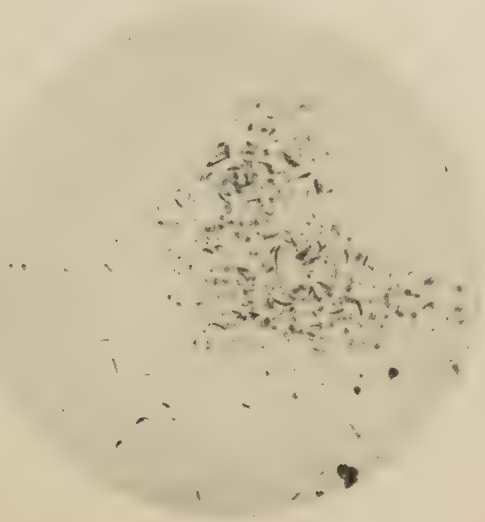


FIG. 7. — Plaquettes normales sensibilisées, lavées trois fois, additionnées de sérum frais de lapin et d'émulsion vibrionienne. (Exp. IV.)

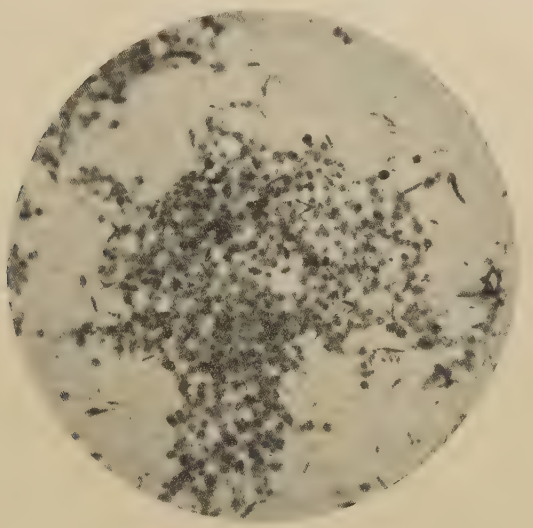


FIG. 8. — Plaquettes normales sensibilisées, lavées trois fois, chauffées à 56°, additionnées de sérum frais et d'émulsion vibrionienne. (Exp. IV.)

rique, comme dans l'expérience précédente. Le mélange est laissé vingt-quatre heures à la glacière. Ces plaquettes sensibilisées sont lavées sept fois : nous avions soin de prélever des fractions d'émulsion après les deuxième, troisième, cinquième et septième lavages. A ces fractions non chauffées ou chauffées à 56° ou 74°, on ajoute du sérum frais de lapin, ainsi que de l'émulsion vibrionienne. Les mélanges sont laissés quarante minutes à 37°.

L'examen microscopique des préparations faites nous montre, à côté de l'emplaquettement des vibrions, une transformation granulaire à peine appréciable, même avec les fractions chauffées à 56°, où l'emplaquettement est très fort. La majorité des vibrions sont intacts.

Les expériences de contrôle faites avec des plaquettes normales, lavées immédiatement après la saignée de l'animal ou conservées vingt-quatre heures à la glacière dans leur propre plasma (après les avoir chauffées ou non), n'ont jamais donné la transformation granulaire dans les conditions de l'expérience précédente (fig. 10).

Il résulte des expériences précédentes : *a)* que les plaquettes normales conservées dans le plasma se chargent d'anticorps (agglutinines, vibriolysines) lorsqu'à ce plasma on ajoute une certaine quantité de sérum spécifique, et qu'elles gardent les anticorps absorbés même après lavages successifs ; *b)* que les plaquettes provenant d'un animal immunisé présentaient la même propriété absorbante, mais à un degré légèrement supérieur.

Les anticorps emmagasinés de la sorte sont déversés au dehors sitôt que les plaquettes viennent au contact de l'antigène, sur lequel elles exercent dès lors une action agglutinante ou lytique.

Comme conséquence logique de cette constatation, nous admettons que les globulins, à côté de leur rôle d'agglutinant, possèdent également celui de vecteurs des anticorps, qu'elles restituent automatiquement au contact de l'antigène.

Sa facilité de céder au milieu ambiant les anticorps emmagasinés est intensifié à la température de 56°, peut-être par suite des modifications structurales que l'élément subit par le chauffage.

Cette constatation justifie sous une forme encore plus tangible le rôle attribué aux plaquettes du sang dans la défense de l'organisme.

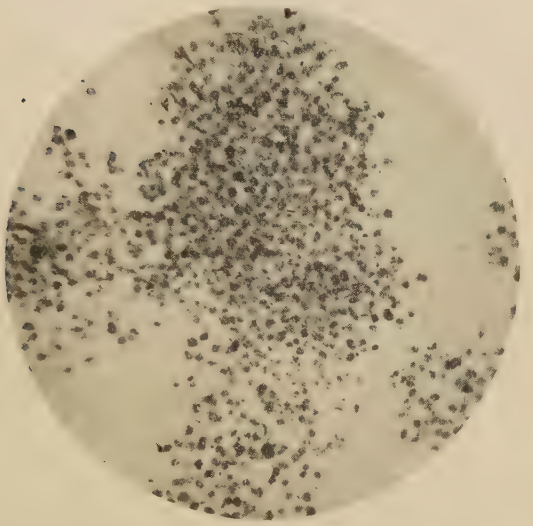


FIG. 9. — Plaquettes normales sensibilisées, lavées cinq fois, chauffées à 56°, additionnées de sérum frais de lapin et d'émulsion vibrionienne. (Exp. IV.)

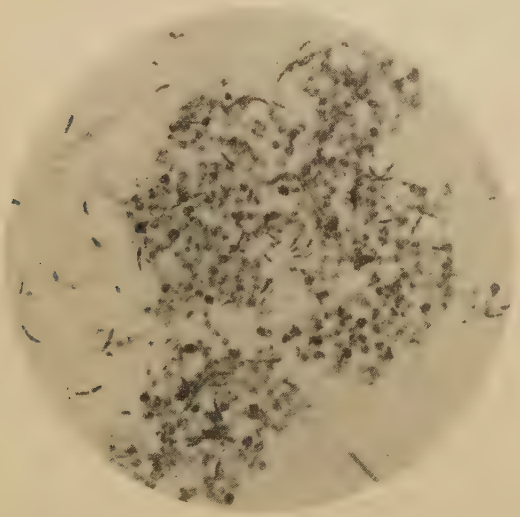


FIG. 10. — Plaquettes normales lavées cinq fois, chauffées à 56°, additionnées de sérum frais de lapin et d'émulsion vibrionienne.

III

Action préventive exercée vis-à-vis de la péritonite vibrionienne expérimentale par les plaquettes sanguines de lapin immunisé contre le vibrion cholérique.

Dans les expériences précédentes, nous avons montré que des plaquettes sanguines de lapin immunisé contre le vibrion cholérique et mises, après lavages répétés, au contact de vibrions vivants en présence d'un peu de sérum normal frais, agglutinent fortement les vibrions et leur font subir la transformation en granules. Dans les mêmes conditions, des plaquettes de lapin normal présentent un pouvoir agglutinant assez fort, mais pas trace de pouvoir vibriolytique.

Nous avons voulu voir si ces plaquettes peuvent exercer sur l'animal vivant un pouvoir protecteur appréciable vis-à-vis de l'infection vibrionienne mortelle, et si la différence si nette constatée *in vivo* entre les plaquettes de l'animal immunisé et celles de l'animal normal se retrouvent *in vivo*. Dans ce but, nous avons immunisé des lapins contre le vibrion cholérique d'après la technique donnée plus haut. La récolte des plaquettes ne se faisait que lorsque le sérum fixait le complément à titre égal ou supérieur à 1/15.000. Les plaquettes lavées étaient finalement émulsionnées dans la solution physiologique de NaCl, non oxalaté, la concentration en plaquettes de l'émulsion équivalant environ au quart de leur concentration dans le plasma de l'animal vivant. A ces concentrations, nous avons fait la fixation du complément. La dose minima mortelle des vibrions tuant par injection intrapéritonéale un cobaye de 350-400 grammes en douze heures était d'un vingtième d'une culture de seize à vingt heures sur gélose. Nous avons travaillé sur un lot de cinq lapins immunisés et un lot de cinq lapins normaux.

Les plaquettes provenant d'un animal immunisé étaient lavées trois fois ; les plaquettes normales, deux fois. Le tableau n° VI montre comment notre expérience était disposée.

TABLEAU N° VI

Lapin n° 1 immunisé ; titre agglutinant du sérum, 1/16.000 ; la fixation du complément, 1/16.000. Les plaquettes lavées trois fois ne fixent pas le complément en dilution d'un cinquième.

Plaquettes immunisées	Plaquettes normales	Emulsion vibrionienne	Sérum frais lapin	Résultats
1,5 cc.	—	1 dose mortelle	0,1 cc.	Résiste
1,5 cc.	—	2 doses mortelles	0,1 cc.	Résiste
1,5 cc.	—	3 doses mortelles	0,1 cc.	Mort en 12 heures
—	2 cc.	1 dose mortelle	0,1 cc.	Mort en 12 heures
—	2 cc.	2 doses mortelles	0,1 cc.	Mort en 12 heures
1,5 cc.	—	2 doses mortelles	0,1 cc.	Résiste
—	—	1 dose mortelle	0,1 cc.	Mort en 12 heures
—	—	2 doses mortelles	—	Mort en 12 heures

Après contact d'une heure à la température du laboratoire, le mélange était inoculé dans le péritoine d'un cobaye.

Les résultats globaux de nos expériences sont concentrés dans le tableau n° VII.

TABLEAU N° VII

Plaquettes immunisées + 1 dose mortelle de vibrions + 0,1 cc. sérum frais.....	5 cobayes, tous résistent.
Plaquettes immunisées + 2 doses mortelles de vibrions + 0,1 cc. sérum frais.....	5 cobayes, tous résistent.
Plaquettes immunisées + 3 doses mortelles de vibrions + 0,1 cc. sérum frais.....	5 cobayes, 2 morts, 3 résistent.
Plaquettes immunisées + 2 doses mortelles de vibrions (sans addition de sérum frais)	2 cobayes, 1 mort, 1 résiste.
Plaquettes normales + 1 dose mortelle de vibrions + 0,1 cc. sérum frais.....	7 cobayes, 6 morts 1 résiste.
Plaquettes normales + 2 doses mortelles de vibrions + 0,1 cc. sérum frais.....	7 cobayes, 3 morts, 4 résistent.
Plaquettes normales + 1 dose mortelle de vibrions + 0,1 cc. sérum frais.....	2 cobayes, 1 mort, 1 résiste.
Témoins : 1 dose mortelle de vibrions.....	6 cobayes, tous morts.

Ainsi donc, sur un total de 17 cobayes injectés avec les mélanges contenant les plaquettes provenant des lapins immunisés, nous avons eu 82,36 % de survivants et 17,64 % de morts. Tandis

que, sur 14 cobayes inoculés avec les mélanges contenant les plaquettes normales, il y a eu 35,72 % de survivants et 64,28 % de morts. L'action protectrice des plaquettes est incontestable, mais celles qui proviennent de l'animal immunisé possèdent un pouvoir préventif bien supérieur à celui des plaquettes normales, puisqu'elles protègent à coup sûr contre deux doses mortelles, et dans la moitié des cas contre trois doses. Ajoutons enfin que, contrairement à ce qui se passe pour les expériences *in vitro*, les résultats *in vivo* sont identiques avec ou sans addition de sérum frais au mélange.

IV

Action préventive exercée vis-à-vis de la péritonite vibrionienne par les extraits de plaquettes sanguines de lapin immunisé contre le vibrion cholérique.

Nous avons vu que les plaquettes de lapin immunisé contre l'infection vibrionienne exercent une action préventive vis-à-vis de la péritonite vibrionienne expérimentale du cobaye. Nous avons voulu voir si un extrait aqueux de plaquettes débarrassé du stroma de ces dernières présentait quelques propriétés analogues. L'extrait a été préparé d'après les indications données par Roskam. Les lapins, solidemment immunisés contre le vibrion cholérique, étaient saignés à blanc huit jours après la dernière injection. Les plaquettes, isolées par la méthode classique, étaient lavées à trois ou quatre reprises par la solution physiologique de NaCl oxalatée de 2 ‰. Le culot ainsi obtenu était pesé, émulsionné dans de l'eau distillée, dans la proportion de 1 gramme de plaquettes pour 12 centimètres cubes d'eau distillée, ensuite soumis dans un agitateur à perles à une agitation fractionnée (deux séances d'une demi-heure séparées par un intervalle d'un quart d'heure). Après quoi, l'émulsion était centrifugée pendant une heure à plus de quatre mille tours par minute. Le liquide, finalement obtenu complètement débarrassé de stroma, présente une opalescence à peine appréciable. Cet extrait, isotonisé par l'addition d'une solution concentrée de NaCl, était mélangé à la dose de 1 ou 2 centimètres cubes avec une, deux et trois doses mortelles pour le cobaye de vibrions cholériques. Après contact d'une demi-heure à la température du laboratoire, les émulsions

étaient inoculées dans le péritoine du cobaye, dont le poids variait entre 350-400 grammes.

Dans une autre série d'expériences, l'injection intrapéritonéale de l'extrait de plaquettes précédait de deux heures l'injection intrapéritonéale de l'émulsion vibrionienne.

Nos expériences ont porté sur les extraits de plaquettes provenant de 11 lapins immunisés et de 6 lapins normaux. Les résultats globaux de ces expériences sont résumés dans le tableau n° VIII.

TABLEAU N° VIII

Extrait plaquettes immunisées + 0,1 cc. sérum frais + 1 dose mortelle de vibrions, 1/2 heure à 18°	7 cobayes, 4 résistent, 3 morts.
Extrait plaquettes immunisées + 0,1 cc. sérum frais + 2 doses mortelles de vibrions, 1/2 heure à 18°	8 cobayes, 7 résistent, 1 mort.
Extrait plaquettes immunisées + 2 doses mortelles de vibrions, 1/2 heure à 37°	1 cobaye, 1 résiste,
Extrait plaquettes immunisées + 0,1 cc. sérum frais + 3 doses mortelles de vibrions, 1/2 heure à 18°	1 cobaye mort.
Extrait plaquettes immunisées + 3 doses mortelles de vibrions, 1/2 heure à 37°	3 cobayes, 3 morts.
Extrait plaquettes immunisées ; deux heures après, 3 doses mortelles de vibrions	6 cobayes, 3 résistent, 3 morts.
Extrait plaquettes normales + 0,1 cc, sérum frais + 1 dose mortelle de vibrions, 1/2 heure à 18°	3 cobayes, 1 résiste, 2 morts.
Extrait de plaquettes normales + 0,1 sérum frais + 2 doses mortelles de vibrions, 1/2 heure à 18°	3 cobayes, 1 résiste, 2 morts.
Extrait plaquettes normales, + 2 doses mortelles de vibrions, 1/2 heure à 37°	1 cobaye, 1 résiste.
Extrait de plaquettes normales ; deux heures après, 2 doses mortelles de vibrions	4 cobayes, 4 morts.
Extrait plaquettes normales + 0,1 cc. sérum frais + 3 doses mortelles de vibrions, 1/2 heure à 18°	2 cobayes, 2 morts.
Sérum normal, 0,1 cc. + 1 dose mortelle de vibrions	9 cobayes, 7 morts, 2 résistent.
Témoins : 1 dose mortelle de vibrions	12 cobayes, 12 morts.

Il résulte de ces expériences que sur les 28 cobayes inoculés avec le mélange extrait des plaquettes immunisées + vibrions,

15 ont résisté et 11 sont morts. Une partie des cobayes a été réservée pour l'étude du processus péritonéal et sacrifiée. Parmi les cobayes morts, 7 ont été inoculés avec trois doses mortelles, 1 avec deux doses mortelles et 3 avec une dose mortelle de vibrions cholériques. Il est important de faire remarquer ici que, parmi les lapins immunisés fournisseurs de plaquettes, 9 fournirent des extraits qui furent constamment préventifs et 2 autres nous donnèrent des extraits dépourvus de toute action préventive, bien que leur sérum possédât une action vibriolytique et agglutinante très élevée. L'action préventive a été constatée dans un certain nombre de cas pour les extraits de plaquettes normales.

Si l'on compare l'action préventive d'un extrait de plaquettes à celle des plaquettes elles-mêmes, on voit que ces dernières ont un pouvoir préventif infiniment plus prononcé. Sur un total de 17 cobayes inoculés avec des plaquettes provenant des lapins immunisés, 82,6 % ont survécu et 17,4 % sont morts, tandis que, sur 26 cobayes inoculés avec l'extrait de plaquettes provenant des lapins immunisés, 57,68 % ont survécu et 42,32 % sont morts. On voit par là qu'il existe chez les plaquettes provenant d'animaux immunisés une action préventive très appréciable et infiniment plus énergique que celle que l'on observe dans le même cas en employant des plaquettes d'animal normal : ces dernières, en effet, ne protègent contre une et deux doses mortelles de vibrions que dans une proportion de 35,7 % avc 64,3 % de mortalité. Notons également que, tandis que les plaquettes de l'animal immunisé possèdent un pouvoir préventif beaucoup plus fort que l'extrait obtenu en broyant ces plaquettes, cette différence s'efface lorsque l'on emploie comparativemnet des plaquettes d'animal normal et l'extrait de ces plaquettes. Il est vrai qu'une partie de l'action préventive du mélange peut être mise au compte du sérum normal : en effet, une partie des cobayes inoculés avec sérum normal + émulsion vibrionienne ont survécu (18,2 %).

Si l'on suit en sacrifiant les animaux les processus microscopiques qui accompagnent l'introduction du mélange extrait de plaquettes immunisées + vibrions dans la cavité péritonéale du cobaye, l'on constate une transformation extrêmement rapide des vibrions en granules, aussi bien dans les liquides qu'à la surface de l'épiploon.

D'après ce qui a été dit au chapitre II sur l'emmagasinement par les plaquettes d'anticorps spécifiques récupérables par diverses méthodes, l'interprétation du phénomène de Pfeiffer, obtenu comme il vient d'être dit, nous semble toute rationnelle.

V

Sur les propriétés hémolytiques des plaquettes du sang.

Dans une nouvelle série d'expériences, nous avons repris l'étude des propriétés des plaquettes du sang en employant cette fois comme antigène des globules rouges. Nous avons préparé une série de lapins avec des globules rouges de moutons lavés ; les animaux recevaient trois injections successives dans la veine à cinq jours d'intervalle. Ils n'étaient saignés qu'à partir du moment où le titre hémolytique de leur sérum dépassait 1/2.000. Les lapins étaient saignés à blanc et le sang était recueilli dans des tubes paraffinés contenant une solution d'oxalate de soude calculée de façon à obtenir un sang oxalaté à 1 ‰.

Les plaquettes étaient séparées par la méthode classique, lavées quatre fois avec de la solution physiologique oxalatée, puis étaient émulsionnées dans une solution physiologique de NaCl non oxalatée, la concentration de l'émulsion étant égale au quart de la concentration primitive dans le plasma de l'animal.

Voici le tableau des premières expériences (tableau n° IX) :

Les mélanges plaquettes-globules rouges sont laissés quarante minutes à 37°, puis on ajoute l'alexine. Après un nouveau séjour de trente minutes à 37°, les tubes sont centrifugés pour mieux nous rendre compte du degré de l'hémolyse. La détermination du degré de l'hémolyse était faite à l'aide d'une échelle colorimétrique, le chiffre 100 représentant l'hémolyse totale obtenue en émulsionnant 1 centimètre cube de globules rouges de mouton dans 50 centimètres cubes d'eau distillée.

Aucune trace d'hémolyse ne se produit au contact des plaquettes de lapin normal. Même absence d'hémolyse quand l'alexine était remplacée par du sérum de lapin inactivé à 56° ou par la solution physiologique.

Les plaquettes d'animal immunisé placées dans les mêmes conditions donnent lieu à une hémolyse qui, dans l'échelle colorimétrique, varie entre 10 et 90. L'action hémolytique des plaquettes varie d'un animal à l'autre pour la même quantité d'émulsion de plaquettes. Cette variation est en grande partie fonction du degré de l'immunisation de l'animal.

Deuxième expérience. — Prenons les plaquettes d'un animal immunisé dont le sérum ne présentait qu'un titre hémolytique très faible (1/500). Ces plaquettes, lavées et mises au contact des globules rouges de mouton, puis de l'alexine, n'exercent aucune action hémolytique. Laissons les plaquettes dans leur propre plasma pendant vingt-quatre heures à la glacière. Le lendemain, les plaquettes sont lavées cinq fois en prélevant des fractions du dépôt à partir du troisième lavage. Ces fractions sont émulsionnées dans une quantité de solution physiologique, la concentration de l'émulsion étant égale au quart de la concentration primitive dans le plasma de l'animal.

Les résultats de l'expérience sont concentrés dans le tableau n° X.

Nous constatons que les plaquettes qui ont séjourné vingt-quatre heures dans leur plasma acquièrent des propriétés hémolytiques assez importantes, qu'elles conservent même après le cinquième lavage. Cette propriété est plus marquée quand les plaquettes ont été chauffées à 56°.

TABLEAU N° IX

Lapin immunisé, titre hémolytique du sérum 1/4.000 en vingt minutes.
Lapin normal, son sérum n'hémolyse pas à la dose de 0 cc. 2.
Alexine, sérum frais de cobaye.

Emuls. plaq. animal immunisées	Emulsion plaquettes normales	Liquide du 1er lavage	Liquide du 2e lavage	Liquide du 3e lavage	Alexine 1/10	Emulsion glob. rouges	Sérum physiologique	Résultats Hémolyse.
0,1 cc.	—	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	0,9 cc.	Partielle (10)
0,5 cc.	—	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	0,5 cc.	» (40)
1 cc.	—	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	—	Presque totale (90)
—	0,1 cc.	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	0,9 cc.	Nulle
—	0,5 cc.	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	0,5 cc.	»
—	1 cc.	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	—	»
—	—	1 cc.	—	—	0,5 cc.	1 cc.	—	Totale (100)
—	—	—	1 cc.	—	0,5 cc.	1 cc.	—	Partielle (10)
—	—	—	—	1 cc.	0,5 cc.	1 cc.	—	Nulle
—	—	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	0,5 cc.	»
—	—	—	—	—	—	1 cc.	1,5 cc.	»

Troisième expérience. — Dans cette expérience, nous avons répété l'expérience précédente, mais cette fois-ci, au lieu d'employer des plaquettes provenant de l'animal immunisé, nous avons travaillé avec des plaquettes de lapin normal dont le sérum n'hémolyse pas les globules rouges de mouton, pas même à la dose de 0 cc. 2 en présence de l'alexine (il faut ajouter ici que les plaquettes d'un lapin normal, dont le sérum hémolyse les globules rouges en présence de l'alexine, n'ont plus d'action hémolytique si elles ont été lavées trois fois).

Les plaquettes normales séparées par la méthode classique sont divisées en deux parties ; l'une est laissée dans leur propre plasma, auquel on ajoute du sérum hémolytique en proportion d'un vingtième ; l'autre partie, après avoir été lavée deux fois, puis émulsionnée dans une quantité de sérum physiologique égale à celle du plasma initial, est additionnée de sérum hémolytique dans la proportion d'un vingtième. Ces mélanges sont laissés vingt-quatre heures à la glacière. Le lendemain, les plaquettes sont lavées cinq fois ; on pré-

TABLEAU N° X

Lapin immunisé, titre hémolytique de son sérum 1/500 en vingt minutes.
Les plaquettes laissées dans leur plasma vingt-quatre heures à la glacière.

Plaquettes lavées trois fois	Plaquettes lavées cinq fois	Liquide du 1er lavage	Liquide du 3e lavage	Liquide du 5e lavage	Alexine	Globules rouges 50 %	Résultats Hémolyse
1 cc.	—	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse (65)
1 cc. chauffées 56°	—	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse (70)
1 cc. chauffées 74°	—	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse nulle
—	1 cc.	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse (40)
—	1 cc. chauffées 56°	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse (60)
—	1 cc. chauffées 74°	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse (0)
—	—	1 cc.	—	—	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse totale (100)
—	—	—	1 cc.	—	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse (10)
—	—	—	—	1 cc.	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse nulle
—	—	—	—	—	—	1 cc.	Hémolyse nulle
—	—	—	—	—	0,5 cc.	1 cc.	Hémolyse nulle

Après avoir ajouté l'alexine, les tubes sont laissés trente minutes à 37°, puis centrifugés.

lève des fractions après le troisième et le cinquième lavage. L'expérience a été disposée comme dans le tableau précédent (tableau n° X) et les résultats globaux sont les suivants :

a) Les plaquettes normales laissées au contact de leur plasma et sensibilisées, puis lavées trois, cinq ou six fois, ne donnent aucune trace d'hémolyse si on leur ajoute des globules rouges et de l'alexine. Les mêmes plaquettes chauffées une demi-heure à 56° donnent une hémolyse qui varie entre 40 et 50 dans l'échelle colorimétrique. Après chauffage à 74°, l'hémolyse est nulle.

b) Les plaquettes normales lavées, puis sensibilisées, se comportent comme les précédentes, alors qu'elles ne sont pas chauffées. Chauffées à 56°, ces plaquettes, après trois ou cinq lavages, donnent une hémolyse forte, variant entre 40 et 90 dans l'échelle colorimétrique. Après chauffage à 74°, l'hémolyse est nulle.

Dans les deux expériences, les liquides de lavage (troisième et cinquième lavages) à la dose de 1 centimètre cube ne possèdent plus aucun pouvoir hémolysant.

Comme on le voit, les résultats de ces dernières expériences sont exactement superposables à ceux que nous avions obtenus en employant comme antigène des vibrions cholériques. Dans le cas de globules rouges, les plaquettes sanguines, qu'elles proviennent d'un animal normal ou d'un animal immunisé contre les globules rouges de mouton, se chargent d'anticorps lorsqu'on les laisse quelque temps en contact avec un sérum spécifique. Ces plaquettes, qui ont de la sorte adsorbé les anticorps (agglutinines ou sensibilisatrices), les restituent au liquide ambiant lorsqu'on les émulsionne dans la solution physiologique de NaCl. Il existe néanmoins une différence notable dans la façon de se comporter vis-à-vis de l'excipient entre les plaquettes provenant d'un animal immunisé et celles qui proviennent d'un animal normal ; les premières, laissant diffuser les anticorps sans que l'émulsion ait été chauffée à 56°, les secondes ne perdent leur charge d'anticorps adsorbés qu'après chauffage à 56°. On constate néanmoins que le départ des anticorps fixés sur les plaquettes d'animal immunisé se fait avec une énergie plus grande après chauffage.

CONCLUSIONS

A côté de leur rôle d'emplaquettement, bien reconnu aujourd'hui, les plaquettes se comportent vis-à-vis de divers antigènes à la façon de véritables anticorps, — cette propriété étant géné-

ralement beaucoup plus marquée dans les plaquettes provenant d'animaux immunisés que chez celles d'animaux normaux.

C'est ainsi que les plaquettes de lapin sont susceptibles de neutraliser (à un degré assez faible, il est vrai) l'action hémolytique de la staphylolysine. Mais, où cette propriété apparaît avec la plus grande netteté, c'est en présence des globules rouges ou des vibrions cholériques employés comme antigènes.

Les plaquettes de lapin immunisé contre les globules rouges de mouton exercent sur ces dernières (après multiples lavages) une énergique action hémolytique, à condition toutefois d'ajouter à l'émulsion un peu de sérum frais. Ce pouvoir hémolytique manque totalement dans les plaquettes de lapin normal.

Il en est de même des plaquettes de lapin immunisé contre le vibrion cholérique, lorsqu'on vient à les mettre en contact avec l'antigène. Outre un pouvoir d'emplaquettement infiniment plus énergique que chez l'animal témoin normal, ces plaquettes exercent sur les vibrions une action lytique des plus énergiques et donnent lieu au phénomène de Pfeiffer, tout comme le ferait un sérum anticholérique très actif. Cette propriété fait totalement défaut aux plaquettes normales.

Comment expliquer cette action d'anticorps exercée par les plaquettes que de nombreux lavages successifs sembleraient avoir débarrassées complètement des traces de sérum qui y adhéraient? Des expériences absolument concordantes, exécutées avec des globules rouges de mouton d'une part, des vibrions cholériques de l'autre, nous ont montré qu'en réalité les plaquettes adsorbent des quantités considérables d'anticorps qui y sont retenus très fortement et qu'elles ne laissent diffuser dans le milieu ambiant qu'à partir du moment où une notable altération physique s'est produite dans la structure physique de ces éléments (lavages mécaniques *répétés,* chauffage à 56°, etc.); c'est pourquoi les premiers lavages ne sont pas capables de récupérer les anticorps fixés sur la substance du globulin ; c'est seulement à partir du cinquième ou sixième lavage que la diffusion s'opère.

Il faut se garder de voir là un phénomène d'excrétion d'anticorps élaborés par les globulins eux-mêmes ; ces éléments ne semblent contribuer en rien à l'élaboration des substances antagonistes; en effet, cette propriété d'adsorber les anticorps présents dans le milieu ambiant appartient également, quoique à un plus faible degré aux plaquettes d'animal normal lorsque celles-ci viennent à être immergées *in vitro* dans un sérum contenant des anticorps spécifiques.

Il est dès lors légitime de supposer que, au cours des processus d'immunité qui se passent *in vivo*, les globulins, à côté de leur fonction d'emplaquettement des parties solides, jouent également le rôle de vecteurs ou de condensateurs des anticorps, qu'ils ont adsorbés dans le plasma et qu'ils restituent au milieu ambiant sitôt que la structure physique vient à s'altérer, ce qui arrive (ainsi que nous le verrons dans un prochain mémoire) au contact des ferments issus des leucocytes ; grâce à ce mécanisme, les foyers inflammatoires endocapillaires (poumon, foie) représentent ainsi le lieu où les anticorps se trouvent à leur maximum de concentration.

BIBLIOGRAPHIE

Aynaud. — « *Les Globulins* » (*Traité du Sang*, publié sous la direction de Gilbert et Weinberg), J.-B. Baillère, éd., Paris, 1913, t. I).

Aynaud. — « Action des microbes sur les globulins » (*C. R. Soc. Biol.*, 1913, LXX, pp. 54-55).

Bizzozero. — « Sur un nouvel élément morphologique du sang chez les mammifères et sur son importance dans la thrombose et dans la coagulation » (*Arch. it. de Biol.*, 1882, t. I, 1-4).

Bull (C.). — « The agglutination of bacteria *in vivo* » (*Journ. of exp. Med.*, 1915, XXII, pp. 484-491).

Bull (C.) et Mc Kee (Clara). — « The relation of blood platelets to the *in vivo* agglutination of bacteria and their disappearance from the blood stream » (*Amer. Journ. of Hyg.*, 1922, II, 208-224).

Delcourt-Bernard. — « La fonction antixénique des plaquettes sanguines est-elle active ou passive ? » (*Arch. int. de Physiologie*, 1922, XIX, pp. 298-308).

Delrez et Govaerts. — « L'intervention des globulins dans l'élimination des microbes injectés dans la circulation (*C. R. Soc. Biol.*, 1913, LXX, pp. 53-55).

Hayem. — *L'Hématoblaste, troisième élément du sang* (Presses Universitaires de France, éd., Paris, 1923).

Govaerts (P.). — « Le rôle des plaquettes sanguines dans l'immunité naturelle (*C. R. Soc. Biol.*, 1919, LXXXII, pp. 927-929).

Govaerts (P.). — Intervention des opsonines spécifiques dans le phénomène d'accolement des microbes aux plaquettes sanguines (*C. R. Soc. Biol.*, 1920, LXXXIII, pp. 197-199).

Govaerts (P.). — « Technique de l'étude *in vitro* de l'accolement des microbes aux plaquettes sanguines » (*C. R. Soc. Biol.*, 1920, LXXXIII, pp. 197-199).

Govaerts (P.). — « Etude de l'accolement *in vitro* des plaquettes sanguines aux globules rouges étrangers » (*C. R. Soc. Biol.*, 1920, LXXXIII, pp. 1232-1233).

Govaerts (P.). — « La fonction antixénique des plaquettes sanguines » (*Arch. intern. de Physiol.*, 1921, XVI, pp. 1-20).

GOVAERTS (P.). — « L'agglutination plasmatique facteur d'instabilité des particules introduites dans la circulation » (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, LXXXV, pp. 244-245).

GOVAERTS (P.). — « Influence des opsonines et de l'agglutination plasmatique sur l'accolement des microbes aux plaquettes sanguines » (*C. R. Soc. Biol.*, 1922, LXXXVI, pp. 976-979).

GOVAERTS (P.). — « L'accolement des microbes aux plaquettes dans le sang d'animaux immunisés » (*C. R. Soc. Biol.*, 1922, LXXXVI, pp. 979-980).

LE FÈVRE DE ARIC. — « L'intervention des opsonines spécifiques dans le phénomène d'accolement des microbes aux plaquettes sanguines » (*C. R. Soc. Biol.*, 1920, LXXXIII, pp. 398-400).

LE FÈVRE DE ARIC. — « Sur l'identification des propriétés opsonisantes et sigmophiles du sérum » (*C. R. Soc. de Biol.*, 1920, LXXXIII, pp. 1011-1012).

LEVADITI. — « Sur l'état de la cytase dans le plasma des animaux normaux et des organismes vaccinés contre le vibrion cholérique » (*Ann. Inst. Pasteur*, 1901, XV, pp. 894-927).

LEVADITI. — *Le sort des hématies nucléées introduites dans la circulation générale des animaux neufs ou immunisés à l'aide de ces hématies* (Imprimerie de l'Etat, Bucarest, 1905).

POPESCO (C.). — *Cercetări asupra stafilolysinei şi producţiei experimentale de antistafilolysină*, teza Bucuresti, tipografia Cultura, 1923).

POPESCO (C.). — « Du pouvoir empêchant des plaquettes sanguines sur la staphylolysine » (*C. R. Soc. Biol.*, 1923, t. LXXXIX, pp. 259-261).

POPESCO (C.). — « Sur les propriétés antimicrobiennes des plaquettes du sang » (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, XCI, pp. 750-752).

POPESCO (C.). — « Sur les propriétés hémolytiques des plaquettes du sang » (*C. R. Soc. Biol.*, 1925, t. XCII, pp. 1136-1137).

POPESCO (C.). — « Action préventive exercée vis-à-vis de la péritonite vibrionienne expérimentale par les plaquettes de lapins immunisés contre le vibrion cholérique » (*C. R. Soc. Biol.*, 1926, XCV, pp. 420-421).

POPESCO-COMBIESCO (C.). — « Action préventive vis-à-vis de la péritonite vibrionienne expérimentale de l'extrait de plaquettes sanguines de lapins immunisés contre le vibrion cholérique » (*C. R. Soc. Biol.*, 1927, t. XCVII, pp. 1001).

RICHTER (M.). — « Zur Kenntnis der Riechenbergschen Reaktion » (*Zeitschr. f. Imm. Orig.*, 1921, XXXII, pp. 186-194).

ROSKAM (J.). — « La fonction antixénique des globulins » (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, pp. 269-271).

ROSKAM (J.). — « Fonction antixénique, plasma et globulins » (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, t. LXXXV, pp. 733-735).

ROSKAM (J.). — « Le rôle du plasma dans l'agglutination des globulins » (*C. R. Soc. Biol.*, 1922, t. LXXXVI, pp. 733-735).

ROSKAM (J.). — « Quelques faits nouveaux concernant l'emplaquettement des particules étrangères » (*C. R. Soc. Biol.*, 1922, t. LXXXVII, pp. 377-378).

ROSKAM (J.). — « Contribution à l'étude de la physiologie normale et pathologique du globulin » (plaquettes de Bizzozero). (*Arch. intern. de Physiol.*, 1923, XX, pp. 241-330).

ROSKAM (J.). — « De l'action, sur la pression sanguine, de l'extrait aqueux de globulins » (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, XC, pp. 1277-1279).

ROSKAM (J.). — « Action de l'extrait aqueux de globulins (plaquettes de Bizzozero) sur la pression artérielle et sur le calibre vasculaire » (*Arch. intern. de Méd. expérim.*, 1925, I, pp. 577-611).

Schneider. — « Die bakterizide und hämolytische Wirkung der tierischen Gewebsflüssigkeiten und ihre Beziehungen zu den Leucocyten » (*Arch. f. Hyg.*, 1909, LXX, pp. 40-162).

Studitzky. — « Ueber die immunisierenden Eigenschaften verschiedener Blutelemente » (*Weterinay Obosrenie*, 1913; référ. in *Centralbl. f. Bakt.*, 1914, t. 61, p. 172).

Walbum. — « Studium über die Bildung bakteriellen Toxine (Staphylolysin) » (*Bioch. Zeitschr. Beiträge zur chem. Physiol. und Path.*, 1922, t. 129, p. 367).

RECHERCHES SUR LE SIGNE DE LA CHARGE ÉLECTRIQUE DES BACTÉRIES ET DES CELLULES DÉFENSIVES A L'ÉTAT NORMAL ET DANS L'IMMUNITÉ

(Premier Mémoire : Bactéries et Plaquettes.)

par

Eugénie SORU

(Travail de l'Institut de sérums et vaccins et du Laboratoire de médecine expérimentale de Bucarest.)

I. — *BACTÉRIES*

Une suspension microbienne représente du point de vue physico-chimique un système colloïdal dont la stabilité est due à la charge électrique des particules.

La charge électrique des bactéries a été étudiée par de nombreux travailleurs. Bechold [1], le premier, a démontré que les bactéries normales soumises à l'action d'un courant électrique se déplacent en allant à l'anode ; elles ont donc une charge électrique négative.

Le même fait est démontré par Neisser et Friedmann [2], Friedberger [3], Arkriwght [4], Teague et Buxton [5], Putter [6], Szent Gyorgy [7].

En étudiant la charge des *bactéries sensibilisées* (c'est-à-dire mises en contact avec le sérum spécifique), Bechold constate qu'elles floculent sous l'action du courant électrique.

Teague et Buxton [8] montrent qu'elles se déplacent vers l'anode ; elles ont donc une charge électrique négative comme les bactéries normales.

Field et Teague [9] soutiennent que le complexe microbe-agglutinine peut être dissocié sous l'action du courant électrique.

Shibley [10] constate que le sérum spécifique diminue la charge électrique des bactéries.

Michaelis [11] montre, le premier, qu'un microbe peut être caractérisé par le pH auquel il flocule.

Des recherches du même genre faites par Beniasch [12], Eisenberg [13], Sgalitzer [14], Szent-Gyorgy [15], Sartorius [16], Willis E. Gowens [17], Krumwied et Prath [18], montrent que les bactéries sensibilisées sont plus rapidement floculées par les acides que les bactéries normales.

Coulter [19], en étudiant la charge électrique des globules rouges, constate que, tandis que le point iso-électrique des globules normaux est à un $pH = 4{,}75$, celui des globules rouges sensibilisés est déplacé vers $pH = 5{,}3$. Le point iso-électrique des agglutinines normales étant égal à pH 5,5, Coulter croit que le déplacement de celui des hématies sensibilisées est dû aux hæmagglutinines.

Nous nous sommes proposé de reprendre ces recherches et *de voir les modifications de la charge électrique des microbes sensibilisés, c'est-à-dire des microbes normaux mis en contact avec les sérums spécifiques.*

Pour cela, nous avons étudié par la méthode de la *cataphorèse* et celle de *l'agglutination par les acides :*

1° *Le microbe normal,*

2° *L'agglutinine spécifique,*

3° *Le microbe sensibilisé,* c'est-à-dire le complexe microbe-agglutinine.

Comme de nombreux auteurs, Eisenberg [20], E. Putter [21], Northrop et de Kruif [22], Egerth u. Below [23] ont montré que les protéines modifient par leur présence la charge électrique d'une suspension colloïdale, nous avons étudié *comparativement le point iso-électrique du sérum agglutinant et celui des agglutinines, débarrassées des autres protéines de ce sérum.* Nous nous sommes servi des microbes suivants : *B. typhique, Vib. cholérique, B. tumefaciens.*

A) Expériences de cataphorèse.

a) *Cataphorèse des microbes normaux.*

Cultures sur agar (vingt-quatre heures de séjour à 37° pour le B. typhique et le Vibr. cholérique et à 22° pour le B. tumefaciens) émulsionnées dans une solution isotonique de saccharose. Nous avons employé la solution isotonique de saccharose parce que, dans des expériences analogues faites avec le microbe sensibilisé, celui-ci agglutinait instantanément lorsqu'il était émulsionné dans une solution physiologique de NaCl.

L'appareil employé a été le tube en *U* de Michaelis [24]. La

durée des expériences variait d'une demi-heure à deux heures. La chute du potentiel étant de 2.66 volts par centimètre.

La suspension microbienne était introduite dans la partie moyenne de l'appareil, après lui avoir ajouté un mélange-tampon ayant le pH désiré.

Dans les deux branches, on introduisait après lavage, de l'eau distillée ramenée à un pH égal à celui de la suspension microbienne.

La concentration en électrolytes ne dépassait pas celle d'une solution 0,01 normale.

Le pH était vérifié par la méthode électrométrique avant et après chaque expérience.

Nous avons utilisé les mélanges-tampon de Clark et Lubs, de Sörensen ou de Michaelis, suivant la zone qui nous intéressait.

b) *Cataphorèse des microbes sensibilisés.*

Des cultures de vingt-quatre heures, émulsionnées dans une solution isotonique de saccharose, sont mises en contact avec le sérum agglutinant spécifique et maintenues pendant deux heures à 37° Après un séjour d'une nuit à la glacière, l'émulsion était centrifugée, lavée avec une solution isotonique de saccharose (jusqu'à ce que les eaux de lavage n'eussent plus d'action agglutinante sur le microbe ayant servi à l'expérience) et réémulsionnée dans une solution isotonique de saccharose.

Le dispositif pour les expériences de cataphorèse est identique à celui décrit pour les microbes normaux.

c) *Cataphorèse de sérum agglutinant et de l'agglutinine débarrassée des protéines de ce sérum.*

Comme dans toutes nos expériences, nous avons préféré travailler sur un sérum dont le titre agglutinant variait autour d'un millième ; nous avons dilué les différents échantillons de sérum avec une solution isotonique de saccharose. Le pH désiré était obtenu grâce aux mélanges-tampons plus haut cités et vérifié par la *méthode électrométrique.*

La dilution du sérum tamponnée était introduite dans la partie moyenne de l'appareil en *U.* Après avoir bien lavé les branches latérales à l'eau et à l'alcool, puis de nouveau à l'eau distillée, on y introduisait de l'eau distillée dont le pH était pareil à celui du sérum.

Pour obtenir *l'agglutinine pure,* c'est-à-dire débarrassée des

autres protéines du sérum, nous avons employé la *technique suivante* [25] :

Les microbes sensibilisés et lavés suivant le procédé décrit plus haut étaient réémulsionnés dans une solution *n*/200 de Na OH. Après cinq minutes, on centrifugeait, et le liquide limpide, parfois légèrement opalescent, était décanté et ramené à un pH = 7,0. Cette solution, qui contenait l'agglutinine débarrassée des autres protéines du sérum, était soumise à des expériences de cataphorèses analogues à celles faites sur le sérum total.

Lorsqu'il s'agissait des microbes, le sens de la migration était visible à l'œil nu. On le contrôlait pourtant en faisant des préparations microscopiques avec le contenu des deux branches latérales.

Lorsqu'il s'agissait d'expériences faites avec du sérum agglutinant ou des agglutinines purifiées, on examinait le pouvoir agglutinant des liquides recueillis dans les deux branches latérales vis-à-vis du microbe correspondant.

B) Expériences d'agglutination par les acides.

Les suspensions de microbes normaux et sensibilisés étaient obtenues en employant la technique précédemment décrite.

Dans une série de tubes à agglutination, on introduisait un demi-centimètre cube de solution-tampon ayant le pH désiré. On ajoutait à chacun des tubes une goutte de la suspension microbienne. Le tout était maintenu une à deux heures au thermostat. La lecture était faite à l'œil nu et contrôlée par l'agglutinoscope.

La signification des différents symboles employés dans les tableaux qui suivent est la suivante :

Expériences de cataphorèse.

\+ = transport vers l'anode.
— = transport vers la cathode.
± = transport dans les deux sens.
o = pas de transport.

Expériences d'agglutination par les acides.

\+ + + + = agglutination massive.
\+ + + = agglutination très forte.
\+ + = agglutination forte.
\+ = agglutination faible.
\+ = agglutination à peine perceptible.
— = pas d'agglutination.

En examinant le tableau I, nous constatons que *le vibrion*

cholérique normal se transporte vers l'anode, même lorsque la concentration *en ions H augmente jusqu'à pH - 1,2.*

Il conserve donc, pour une zone de *pH allant de 1,2 à 8,1, une charge électrique négative. Le vibrion sensibilisé, par contre, se transporte de pH 8,1 à pH 4,6 vers l'anode*; entre pH 4,6 et pH 3,5, on le retrouve aux deux pôles ; à partir de 3,5, il ne se transporte plus que vers le cathode, il présente donc une zone iso-électrique (une zone d'inversion) placée *entre pH 4,6 et pH 3,5.*

TABLEAU N° I

Cataphorèse du vibrion cholérique (normal et sensibilisé), cataphorèse de l'agglutinine dans le sérum total ou dans le sérum débarrassé de ses protéines.

	Sens du transport électrique			
pH	Vibrion cholérique normal	Vibrion cholérique sensibilisé	Agglutinine purifiée	Sérum agglutinant
1,19	+	—	—	—
1,3	+	—	—	—
1,49	+	—	—	—
1,8	+	—	—	—
2,07	+	—	—	—
2,4	+	—	—	—
3,0	+	—	—	—
3,3	+	—	—	—
3,5	+	—	+	—
3,8	+	—	±	—
4,1	+	±	±	—
4,3	+	±	±	—
4,5	+	±	±	—
4,67	+	±	±	—
4,74	+	+	o	—
4,9	+	+	±	—
5,1	+	+	±	—
5,31	+	+	±	—
5,5	+	+	+	—
5,7	+	+	+	—
6,07	+	+	+	—
6,3	+	+	+	±
6,5	+	+	+	±
6,61	+	+	+	o
6,68	+	+	+	o
6,92	+	+	+	±
7,1	+	+	+	±
7,34	+	+	+	±
7,50	+	+	+	+
7,78	+	+	+	+

L'agglutinine, dans le sérum total, a une charge nettement *négative dans la zone alcaline jusqu'à pH 6,68. Son point iso-électrique est compris entre pH 6,68 et pH 6,61. A partir de*

pH = 6,3 dans la zone *acide*, elle a une *charge positive se transportant vers la cathode.*

L'agglutinine, débarrassée des autres protéines, se transporte vers *l'anode jusqu'à pH 5,5* ; on la retrouve aux deux pôles entre pH 5,5 et 3,5 ; à pH 4,74, elle ne se déplace pas ; *pH 4,74 représente, par conséquent, son point iso-électrique.* A partir de pH 3,5, elle se déplace nettement vers la cathode.

TABLEAU N° II

Cataphorèse du B. typhique normal et sensibilisé, de l'agglutinine typhique dans le sérum total et de l'agglutinine débarrassée des autres protéines du sérum.

	Sens du transport électrique			
pH	B. typhique normal	B. typhique sensibilisé	Agglutinine purifiée	agglutinant Sérum
1,2	+	—	—	—
1,5	+	—	—	—
1,68	+	—	—	—
1,9	+	—	—	—
2,2	+	—	—	—
2,42	+	—	—	—
2,7	+	—	—	—
3,2	+	—	—	—
3,52	+	—	—	—
3,7	+	—	—	—
3,95	+	±	—	—
4,2	+	±	+	—
4,39	+	±	o	—
4,47	+	±	o	—
4,62	+	+	±	—
4,7	+	+	+	—
4,93	+	+	+	—
5,2	+	+	+	±
5,51	+	+	+	±
5,9	+	+	+	o
6,07	+	+	+	o
6,3	+	+	+	±
6,55	+	+	+	±
6,9	+	+	+	±
7,2	+	+	+	±
7,4	+	+	+	±
7,9	+	+	+	±
8,3	+	+	+	±

Il ressort de ce tableau (II) que le *B. typhique normal se transporte vers l'anode, quelle que soit la valeur du pH.* Le bacille *typhique sensibilisé* a *une charge positive jusqu'à pH = 3,7.* Il présente une zone iso-électrique entre pH 3,9 et pH 4,5, avec un *point d'inversion de la charge à pH = 4,5.* Le point iso-électrique de l'agglutinine purifiée est compris entre *pH 4,4 et pH 4,5,* valeur coïncidant avec celle trouvée par Ottenberg et Steubruck *(l. c.).*

L'agglutinine, dans le sérum agglutinant antityphique, présente une *large zone iso-électrique, le point d'inversion se trouvant au voisinage de pH 6,07.*

L'examen du tableau III nous permet de voir que le *B. tumefaciens normal* a une charge électrique négative pour des valeurs de pH allant de 1,2 à 8,3.

TABLEAU N° III

Cataphorèse de B. tumefaciens normal et sensibilisé ; de l'agglutinine antitumefaciens dans le sérum total et de l'agglutinine débarrassée des autres protéines du sérum.

	Sens du transport électrique			
pH	B. tumefaciens normal	B. tumefaciens sensibilisé	Agglutinine purifiée	Sérum agglutinant
1,2	+	−	−	−
1,38	+	−	−	−
1,54	+	−	−	−
1,7	+	−	−	−
1,92	+	−	−	−
2,1	+	−	−	−
2,35	+	−	−	−
2,6	+	−	−	−
2,81	+	−	−	−
3,1	+	−	−	−
3,25	+	−	−	−
3,43	+	−	−	−
3,44	+	±	−	−
3,62	+	o	−	−
3 84	+	o	±	−
4	+	±	±	−
4.21	+	±	o	−
4,5	+	−	±	−
4,72	+	−	±	−
4,9	+	−	±	−
5,2	+	−	−	−
5.3	+	−	−	−
5,6	+	−	−	−
5,98	+	−	−	o
6,3	+	−	−	±
6,52	+	−	−	±
6,8	+	−	−	±
7,1	+	−	−	±
7,3	+	−	−	−
7,6	+	−	−	−
8,1	±	−	−	−

Le *B. tumefaciens sensibilisé* a une *charge positive* de pH 1,2 à pH 3,2 ; il présente un point iso-électrique à *pH-3,4-3,62.* A partir de pH 3,62, il se déplace vers l'anode. L'aggluninine purifiée a son point iso-électrique vers *pH 3,8,* tandis que dans le sérum total son point iso-électrique est à *pH = 5,98.*

En comparant les tableaux I, II et III, nous constatons que,

quel que soit le microbe étudié (Vb. cholérique, B. typhique ou tumefaciens), le microbe sensibilisé se comporte autrement du point de vue de la charge électrique que le microbe normal.

1° *Le microbe normal* ne présente pas de point d'inversion, sa charge électrique reste continuellement négative, même dans la zone très acide, vers pH = 1,2.

Le microbe sensibilisé a un point iso-électrique à un pH nettement défini. La charge est positive au-dessous et négative au-dessus de ce pH.

2° L'agglutinine, dans le sérum total, a un point iso-électrique autre qu'à la suite de la purification.

3° Le point iso-électrique du microbe sensibilisé est très voisin de celui de l'agglutinine purifiée.

TABLEAU N° IV

Agglutination par les acides du vibrion cholérique normal et du vibrion cholérique sensibilisé.

pH	Agglutination du vibrion cholérique normal	Agglutination du vibrion cholérique sensibilisé
1,19	+	—
1,3	+	—
1,5	+	—
1,7	+	—
1,92	+	—
2,3	+ +	> < —
2,5	+ + + +	> > < —
2,72	+ + +	> < —
3,0	+	—
3,3	+	—
3,5	—	+
3,7	—	+
4,1	—	+
4,44	—	+
4,50	—	+ + + +
4,7	—	+ + + +
5	—	+ +
5,2	—	+ +
5,4	—	+
5,6	—	+
5,8	—	+
6	—	+
6,2	—	+
6,5	—	+
6,7	—	+
6,92	—	+
7,1	—	+
7,4	—	+
7,69	—	+
7,9	—	+
8,2	—	+

Par le fait de la sensibilisation, on constate *aussi une modification de la zone d'agglutination par les acides et de la vitesse de transport du microbe considéré.*

Le vibrion normal (tab. IV) présente donc un maximum d'agglutination entre pH 2,4 et pH 2,7, il n'agglutine qu'au-dessous de ces valeurs du pH. Le vibrion sensibilisé n'est pas agglutiné dans la zone acide; il présente un maximum d'agglutination à pH = 4,4.

TABLEAU N° V

Agglutination par les acides du B. typhique.

pH	Agglutination du B. typhique normal	Agglutination du B. typhique sensibilisé
0,9	—	±
1,2	—	±
1,5	—	±
1,73	—	±
1,82	—	±
2,1	—	±
2,37	—	±
2,5	—	±
2,8	—	±
3,04	±	±
3,22	+ +	±
3,51	+ + + +	±
3,8	+ + + +	±
4,1	+ +	±
4,2	+	+ +
4 378	+	+ +
4,4	—	+ + + +
4,67	—	+ + +
4,77	—	+ + +
4,83	—	+ +
4,159	—	+ +
5,37	—	+ +
5,48	—	+
5,97	—	+
6,11	—	+ +
6,30	—	+ +
6,49	—	+ +
6,68	—	+ +
6,73	—	±
6,71	—	±
6,9	—	±
7,2	—	±
7,5	—	±
7,9	—	±
8,2	—	±

Le B. typhique (tab. V) présente deux zones d'agglutination, l'une entre pH 3,04 et pH 4,4 avec un maximum à pH 3,56-3,8, et une autre entre pH 6,1 et 6,7. L'agglutination dans cette dernière zone est beaucoup plus faible.

Le B. typhique sensibilisé présente un déplacement du maximum d'agglutination de pH 3,56-3,60 à pH 4,378.

TABLEAU N° VI

Agglutination du B. tumefaciens par les acides.

pH	Agglutination du B. tumefaciens normal	Agglutination du B. tumefaciens sensibilisé
0,9	—	±
1,2	—	±
1,45	—	±
1,62	—	±
1,84	—	+
2,01	—	+
2,2	—	+
2,42	—	+
2,70	—	+
3.06	—	+ + +
3.2	—	+ + + +
3,5	—	+ + + +
3.7	—	+ + +
4	—	+ +
4.3	—	±
4,51	—	±
4.73	—	±
5	—	±
5,2	—	±
5.43	+ +	±
5,61	+ + + +	±
6	+ + + +	±
6,3	+ + + +	±
6,5	+ + +	±
6,7	+ +	±
7	±	±
7,1	±	±
7,2	±	±
7,6	±	±
7,9	±	±
8	±	±

Enfin nous avons constaté que le vibrion sensibilisé *diffère du vibrion normal par la vitesse de transport lorsque les expériences sont faites à un pH égal à celui du plasma sanguin, donc à pH 7,4.*

Pour le vibrion cholérique normal, la vitesse de transport est égale à 0,00037 ou $3,7 \times 10^{-4}$.

Pour le vibrion cholérique sensibilisé, elle est réduite à 0,00021 ou $2,1 \times 10^{-4}$.

II. — *PLAQUETTES.*

Les plaquettes sanguines ont en général la propriété de fixer à leur surface les corps étrangers avec lesquels elles viennent en

contact. Elles agglutinent, aussi bien *in vivo* que *in vitro*, différents microbes (Aynaud, 1911).

Elles ont même une forte tendance à agglutiner entre elles et à fixer les bactéries, en facilitant de la sorte leur résorption dans l'organisme (Cornelia Popescu) [26]. Les plaquettes jouent donc un rôle important dans les phénomènes d'immunité. Ce sont surtout les plaquettes des animaux immunisés qui se comportent de la sorte.

Cette propriété des plaquettes de fixer les corps étrangers introduits dans la circulation a fait supposer à Govaerts [27] qu'elles ont un rôle important dans l'élimination de ces facteurs (fonction antixénique).

Roskam croit que l'emplaquettement est dû à une modification de la surface des particules mises en contact avec le plasma ou le sérum (phénomènes d'opsonisation), et qu'il peut avoir lieu même avec des plaquettes tuées.

J. Cantacuzène et M. Vlès [29] cherchant à expliquer les propriétés agglutinantes sélectives des urnes du sang de Sipunculus nudus, prouvent qu'elles sont dues à des différences du signe de la charge électrique des éléments mis en présence. Les globules rouges de Sipunculus nudus ayant une charge positive sont repoussées par les urnes qui ont une charge du même signe, tandis que les globules rouges de mouton qui ont une charge négative sont fixés par ces mêmes urnes.

Cette expérience fait supposer à Govaerts [30] que le phénomène d'agglutination des bactéries à la surface des plaquettes pourrait bien être dû à une cause semblable. Il étudie le signe de la charge électrique des plaquettes normales, ainsi que celui des microbes normaux et opsonisés, et trouve que, lorsque les conditions d'expérience sont identiques, tous ces éléments ont une même charge. Le phénomène d'agglutination qui a lieu à la surface des plaquettes n'est donc pas dû à une différence de signe de la charge électrique.

Je me suis proposé d'étudier la charge électrique des plaquettes d'animal normal, des plaquettes d'animal immunisé contre le vibrion cholérique, et enfin des plaquettes d'animal normal ayant été préalablement mises en contact avec du sérum agglutinant anticholérique.

J'ai employé, comme pour les microbes normaux et sensibilisés, la méthode de la cataphorèse, grâce à laquelle j'ai pu déterminer la vitesse de transport, c'est-à-dire le potentiel électrique et le point iso-électrique de ces différentes particules.

TECHNIQUE.

Du sang de lapin était obtenu par ponction de la veine carotide, à l'aide d'une pipette paraffinée. Il était immédiatement transvasé dans des tubes à centrifuge paraffinés et dans lesquels on avait préalablement introduit de l'oxalate d'NH_4 (concentration finale de 2 ‰).

On centrifugeait pendant deux minutes à une vitesse représentant approximativement 2000 tours par minute. A la suite de cette opération, les plaquettes seules restaient en suspension dans le plasma sanguin. Nous avons toujours expérimenté comparativement avec les plaquettes laissées en suspension dans le plasma et les plaquettes centrifugées, lavées et réémulsionnées dans la solution physiologique.

Dans le but de voir si le simple contact des plaquettes normales avec le sérum agglutinant anticholérique pouvait modifier leur charge électrique, nous nous sommes servi de la technique suivante :

A une suspension dans du sérum physiologique des plaquettes normales lavées, on ajoutait le sérum agglutinant anticholérique. Le mélange était maintenu deux heures à 37° et une nuit à la glacière.

Puis on centrifugeait et le dépôt était lavé jusqu'à ce que le liquide de lavage n'agglutinât plus le vibrion cholérique.

Avant chaque expérience, nous examinions les plaquettes au microscope pour nous assurer qu'elles n'étaient pas agglutinées.

Nous avons travaillé à un pH = 7,30.

L'appareil employé pour déterminer la vitesse de transport et le point iso-électrique était le tube en *U* de Michaelis décrit dans le chapitre précédent. On introduisait dans la partie moyenne la suspension de plaquettes, à laquelle on ajoutait 5 % de saccharose et un mélange tampon à pH = 7,3.

Dans les branches latérales, on mettait de la solution physiologique dont le pH avait été ajusté à 7,3 par le même mélange tampon.

RÉSULTATS :

A) *Vitesse de transport.*

TABLEAU N° I

	Vitesse de transport	
	Dans le plasma	Dans la sol. physiologique
Plaquettes d'animal normal....	$0{,}0009 = 9{,}10^4$	$0{,}0016 = 16{,}10^3$
Plaquettes d'animal immunisé..	$0{,}00063 = 6{,}3{,}10^4$	$0{,}00015 = 1{,}5{,}10^4$
Plaquettes normales mises en contact avec du sérum.....	» — »	$0{,}00015 = 1{,}5{,}10^4$

En examinant ce tableau, nous constatons :

1° Que les plaquettes d'animal normal, ainsi que celles d'animal immunisé, ont, lorsqu'elles restent émulsionnées dans le plasma, une vitesse de transport inférieure à celle qu'elles ont dans la solution physiologique ;

2° Les plaquettes d'animal normal ont une vitesse de transport supérieure à celles de l'animal immunisé ;

3° Les plaquettes tenues en contact *in vitro* avec du sérum agglutinant anticholérique, puis lavées, ont une vitesse de transport égale à celles des plaquettes d'animal immunisé, lavées.

B) *Point iso-électrique.*

TABLEAU N° II

pH	Sens du transport électrique		
	Plaquettes d'animal normal	Plaquettes d'animal immunisé	Plaquettes mises en contact avec du sérum agglutinant
1.4	—	—	—
1,62	—	—	—
1,85	—	—	—
2.2	—	—	—
2.52	—	—	—
2,7	—	—	—
3,1	—	—	—
3.4	—	—	—
3,65	±	—	—
3,71	o	±	—
3 91	o	±	±
4,3	o	±	±
4.59	+	o	o
4.84	+	±	+
4.99	+	+	+
5.03	+	+	+
5.3	+	+	+
5,62	+	+	+
5,9	+	+	+
6,2	+	+	+
6,52	+	+	+
6,7	+	+	+
7.1	+	+	+

Les plaquettes normales lavées ont, par conséquent, une charge électrique positive comprise entre pH = 1,4 et pH 3,61; on ne les retrouve à aucun des pôles entre pH 3,61 et pH 4,11; à partir de 4,3, elles ont une charge négative.

Leur point iso-électrique est compris entre *pH 3,61* et *pH 4,11*.

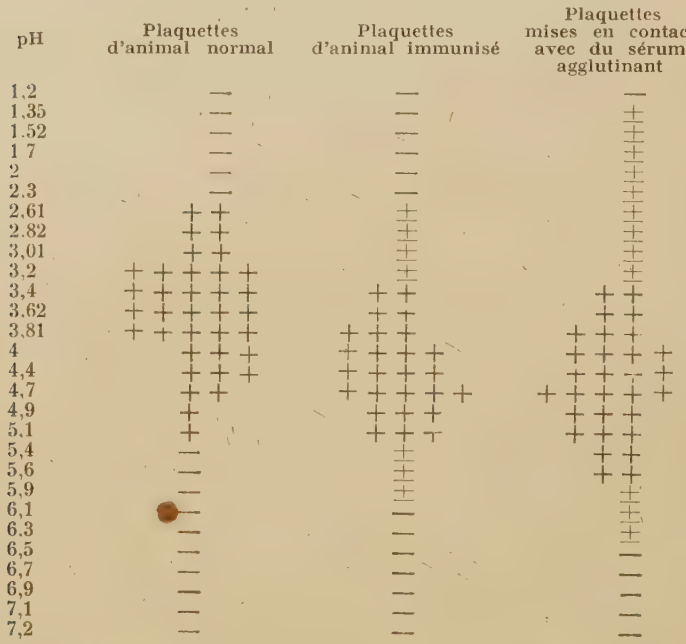
Les plaquettes d'animal immunisé se transportent jusqu'à pH 4,11 au pôle négatif ; on les trouve aux deux pôles entre pH 4,11 et pH 4,3; leur point iso-électrique est situé à pH = 4,59.

Les plaquettes d'animal normal mises en contact avec le sérum agglutinant anticholérique se comportent comme les plaquettes d'animal immunisé, leur point iso-électrique étant à *pH 4,59*.

Comme dans les expériences antérieures nous avions prouvé que le point iso-électrique des agglutinines cholériques purifiées est à pH 4,6-4,7, le point iso-électrique des plaquettes d'animal immunisé nous semble se rapprocher de celui des agglutinines.

TABLEAU N° III

Agglutination par les acides des plaquettes d'animal normal, d'animal immunisé et des plaquettes mises en contact avec le sérum agglutinant anticholérique.



Les résultats exposés dans ce tableau nous permettent de constater que la zone d'agglutination par les acides des plaquettes d'animal immunisé est différente de celle des plaquettes d'animal normal et presque identique à celle des plaquettes mises en contact avec le sérum agglutinant.

La différence consiste en un déplacement de cette zone d'agglutination vers la zone d'agglutination des agglutinines anticholériques purifiées.

Il semble donc que les plaquettes adsorbent à leur surface les agglutinines et que ces dernières ne peuvent pas être récupérées par quatre ou cinq lavages consécutifs.

C'est à ce phénomène d'adsorption que pourrait être due la modification du point iso-électrique et de la zone d'agglutination des plaquettes d'animal immunisé.

Nous avons voulu voir si *l'agglutinine fixée à la surface des plaquettes pouvait être récupérée par un moyen quelconque.* Il était permis de supposer qu'à un pH compris entre 3,91 et 5,40, c'est-à-dire dans la zone d'agglutination par les acides des plaquettes d'animal immunisé, le complexe plaquettes-agglutinines pouvait se dissocier.

En effet, en soumettant la suspension de plaquettes soit d'animal immunisé, soit des plaquettes normales mises en contact avec le sérum agglutinant à des pH variant de 1,4 à 7, nous avons constaté qu'en dehors de la zone d'agglutination acide du vibrion, seul le liquide recueilli au-dessus des mélanges qui avaient floculé agglutinait le vibrion cholérique.

Nous devons en conclure que les plaquettes représentent des éléments susceptibles d'emmagasiner de l'agglutinine et de la restituer au milieu ambiant dans ces circonstances produisant la floculation.

C'est ainsi que les mélanges floculés soumis à des expériences de cataphorèse nous permettaient de retrouver l'agglutinine cholérique au pôle négatif lorsque le pH variait entre pH 3,90 et 4,30. Entre pH 5,03, 5,40, l'agglutinine libérée se transportait au pôle positif. Ce n'est qu'à pH *4,70,* qui correspond au point iso-électrique de l'agglutinine cholérique purifiée, que nous n'avons pu retrouver l'agglutinine à aucun des pôles.

Nous avons fait comparativement les expériences citées plus haut avec des plaquettes chauffées à 56° et avec des plaquettes non chauffées. Elles sont plus nettes encore avec les plaquettes chauffées, en ce sens que la mise en liberté de l'agglutinine se fait avec plus de facilité dans le dernier cas.

CONCLUSIONS

En étudiant les modifications subies par les microbes et les plaquettes mises en contact avec un sérum agglutinant spécifique, nous avons constaté :

1° Que la bactérie sensibilisée diffère de la bactérie normale par le fait qu'elle présente un *point iso-électrique* ;

2° Ce point iso-électrique est au voisinage de celui de l'agglutinine spécifique débarrassée des protéines du sérum ;

3° Le point iso-électrique de l'agglutinine diffère selon que cette agglutinine se trouve ou non en présence des protéines du sérum ;

4° La bactérie sensibilisée diffère encore de la bactérie normale par la vitesse de transport, qui est diminuée chez la première ;

5° Enfin la zone *d'agglutination par les acides* de la bactérie sensibilisée est déplacée vers celle de l'agglutinine débarrassée des protéines du sérum ;

6° Les plaquettes d'un animal immunisé, aussi bien que les plaquettes normales qui ont été mises en contact avec un sérum agglutinant, subissent un déplacement de leur point iso-électrique qui tend à le rapprocher de celui de l'agglutinine spécifique.

Ainsi les plaquettes de lapin normal ont un point iso-électrique compris ente pH 3,71 et pH 4,11.

Les plaquettes de lapin immunisé contre le vibrion cholérique ont leur point iso-électrique placé entre *pH-4,11* et *pH-4,59*.

Le point iso-électrique de l'agglutinine cholérique est à pH 4,6-4,7.

7° La vitesse de transport des plaquettes d'un animal immunisé, ainsi que celle des plaquettes normales mises en contact avec un sérum agglutinant, est plus petite que la vitesse de transport des plaquettes normales ;

8° L'agglutinine fixée par les plaquettes d'animal immunisé ou d'animal normal peut être libérée du complexe plaquette-agglutinine lorsqu'on la soumet à des pH compris dans la zone de la floculation par les acides (1).

Nos résultats semblent prouver que le phénomène de sensibilisation (qui, d'après J. Bordet, représente le premier stade de l'agglutination spécifique) n'est pas dû à une différence entre les signes de la charge électrique des bactéries et de l'agglutinine. Ce phénomène a lieu même à des pH auxquels la bactérie, ainsi que l'agglutinine, ont une charge du même signe.

Il semble plutôt que l'agglutinine soit adsorbée par les microbes ou les plaquettes et qu'elle leur cède de la sorte quelques-unes de ses propriétés physico-chimiques.

(1) Comme le même phénomène, ainsi que l'on peut s'en rendre compte à la lecture du Mémoire de Mme Combiesco, se produit à l'occasion de la floculation par la chaleur à 56°, l'on peut se demander si toute action qui, dans l'organisme, favorise la floculation, n'aurait pas pour résultat la mise en liberté de l'anticorps emmagasiné dans les plaquettes.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bechold. — *Zeitschr. physikal Chem.*, 1904, 48, 385.
2. Neisser u. Friedmann. — *Münch. Med. Wochenschr.*, 1904, 5, 1, 465 et 827.
3. Friedberger. — *Centralbl.*, 1907, 57-76.
4. Arkriwght (J.-A.). — *Journ. Hyg.*, 1914, 14, 261, etc.
5. Teague et Buxton. — *Zeitschr. physikal. Chem.* 1907, 57-76.
6. E. Putter. — *Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig.*, 1921, XXXII, 538.
7. Szent Gyorgy. — *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 113, 1921, p. 29.
8. Teague et Buxton. — *Kolloid Zeitschr.*, 1908, II, supl. 2.
9. Field et Teague. — *Journ. Exper. Med.*, 1907, (9), 222.
10. Schibley. — *Journ. exp. Med.*, 1924, 40, 453.
11. Michaelis. — *Folio Serologica*, 1911, 7, 1010.
12. Beniasch. — *Zeitschr. f. Hyg.*, 1913, 76, 209.
13. Eisenberg. — *Zentralbl. f. Bakt.*, 1919, 83, 70 et 472; 561.
14. Sgalitzer. — *Zeitschr. f. Hygiene*, 1913, 76. 209.
15. Szent Gyorgy. — *Biochem. Zeitschr.*, 1921, 7. 36.
16. Fr. Sartorius. — *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, 1926, 15, p. 478; 1927, 50, 155.
17. Willis-E. Gowens. — *Journ. Infect. diseases*, 1923, 33, 113.
18. Krumwied et Prath. — *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, 1913, 16, 517.
19. Coulter. — *Journ. Gen. Physiol.*, 1922 (4), 403, 30, 309, 515.
20. Eisenberg, *loc. cit.*
21. Putter (E.), *loc. cit.*
22. Northrop et de Kruif. — *J. Gen. Physiol.*, 1922, p. 639, 655.
23. Egerth et Below. — *Journ. Gen. Physiol.*, 1923, 6, 177.
24. Michaelis. — *Pratikum. der Physikal. Chem.*
25. R. Ottenberg et F.-A. Steubruck. — *J. of. General Physiol.*, 1926, 9, p. 345.
26. Cornelia Popescu. — *C. R. Soc. Biologie*, LIXXXIX, 259, 261, 1923; XCI, 750-752; XCII, 1136-1137.
27. Govaerts. — *C. R. Soc. Biol.*, LXXXII, 927; LXXXIII, 197; 1920; L, 232, 1921; LXXXV, 244-245; 667, 1921; LXXXVI, 976, 1922; 979; LXXXVIII, 993, 1924; *An. et Bull. de la Soc. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, LXXVIII, 16, 34, 1921; *Arch. Intern. de Physiol.*, XVI, 1, 20.
28. Roskam. — *Physiologie normale et pathologique du globulin*, 1927.
29. J. Cantacuzène et F. Vlès. — *C. R. Soc. Biol.*, 22, LXXXVII, 1155.
30. Govaerts. — *Loc. cit.*

NOUVELLES RECHERCHES SUR LES PLAQUES SÉNILES

par

G. MARINESCO

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest.

I

Nous faisons précéder ce travail d'un historique des plaques séniles non seulement parce que certains auteurs les désignent, incorrectement, du nom de plaques de Redlich-Fischer, mais surtout parce que leur structure a été l'objet de nombreuses études qui marquent les différentes étapes dans l'analyse histologique et histochimique de ces énigmatiques productions. Nous tiendrons compte, en première ligne, des dernières recherches sur ce sujet.

En 1892, Bloq et Marinesco (1) ont constaté dans l'écorce cérébrale d'un épileptique très âgé la présence de petits corpuscules ronds, granuleux, se colorant vivement, qu'ils considéraient comme des plaques sclérotiques de névroglie.

Redlich (2), en 1898, a étudié également ces corpuscules plus minutieusement chez deux épileptiques séniles et les a dénommés « sclérose miliaire », supposant qu'il y a une relation entre leur existence et l'épilepsie tardive.

En 1906, Léri (3) a observé dans quelques cas d'épilepsie sénile la sclérose miliaire et, lui aussi, supposait un rapport entre les crises épileptiques et ces plaques.

Toujours en 1906, Alzheimer (4) a observé les mêmes foyers de sclérose miliaire dans un cas de démence sénile précoce donnant des symptômes de foyer.

En 1909, Perusini (5) a décrit quatre cas analogues; il a observé

(1) Bloq et Marinesco : « Sur les lésions et la pathogénie de l'épilepsie dite essentielle » (*Semaine Méd.*, 1892).

(2) Redlich : *Miliare sklerose der Hirnrinde Jahrb. f. Psych. u. Neur.*, 1898.

(3) Léri : *Le cerveau sénile*, thèse de Lille, 1906.

(4) Alzheimer : « Ueber eine eigenartige Erkrankungen der Hirnrinde » (*Zentralbl. f. Nervenheilk. u. Psych.*, 1907).

(5) Perusini : « Ueber eigenartige psychische Erkrankungen des späteren Lebensalters » (*Hist. u. Histopathol. Arb. über die Grosshirnrunde*, 1909).

également de multiples foyers de sclérose miliaire dans l'écorce cérébrale de malades décédés d'une maladie à laquelle on a attaché ultérieurement le nom d'Alzheimer.

Alzheimer et Perusini ne savaient pas encore, à cette époque, que ces foyers sont des lésions caractéristiques de la démence sénile, et ils supposaient que c'est une entité tout à fait nouvelle.

En 1907, Fischer (1) arrive à la conclusion que les foyers de sclérose miliaire sont spécialement caractéristiques de la presbiophrénie et qu'on ne les rencontre jamais ni dans la démence sénile essentielle, ni chez les vieillards normaux, ni dans aucune maladie mentale. Fischer considérait ces foyers comme une formation étrangère rappelant la nécrose et activant la prolifération des fibres nerveuses avoisinantes. Etant donné la fréquente ressemblance de ces foyers avec les mycéliums actinomytiques, Fischer les a appelés « nécrose mycotique » et ensuite « sphærotricose », en supposant qu'ils sont d'origine parasitaire. Il a même essayé d'en faire des cultures, mais sans aucun résultat.

Les recherches de Simchowicz sur l'anatomie pathologique de la démence sénile, poursuivies en 1907-1910, dans le laboratoire d'Alzheimer, sur 108 cerveaux (2), avaient entre autres pour but de contribuer à trancher les questions suivantes : les foyers de sclérose miliaire, comme le suppose Fischer, apparaissent-ils vraiment et seulement dans la presbiophrénie et y a-t-il une relation quelconque entre ces foyers et l'épilpsie tardive, comme le supposaient Redlich et Leri ?

M. Simchowicz a rencontré les plaques séniles dans la démence sénile simple comme dans la presbiophrénie. Outre la vieillesse normale, on peut également constater de nombreux foyers de sclérose miliaire dans la maladie d'Alzheimer. Nous voyons donc que ces foyers n'ont rien de commun avec l'épilepsie tardive.

En dehors des travaux publiés par Fischer (3), par nous-même en collaboration avec I. Minea (4), il vient de paraître dans ces der-

(1) Fischer : « Zur Histopathologie des Presbyophrenie » (*Zentralbl. f. Psych. u. Nervenheilk.*, 1908).

(2) Simchowicz : « La maladie d'Alzheimer et son rapport avec la démence sénile » (*L'Encéphale*, 1914).

(3) Fischer (O.) : « Miliare Nekrose bei seniler Demenz » (*Monatsschr. f Psych. u. Nervenkrankh.*, vol. 22). — « Die presbyophrene Demenz, deren anatomische grundlage und Klinische Sbgrenzung » (*Zeitschr. f. ges. Neurol. u. Psych.*, vol. 3, n° 4).

(4) Marinesco (G.). — « Etude anatomique et clinique des plaques dites séniles » (*L'Encéphale*, février 1912).

Marinesco (G.) et Minea (J.) : « Untersuchungen über senilen Plaques » (*Monatsschrift für Psychiatr. u. Neurol. Ergänzungsheft*, 1912).

niers temps des études très intéressantes sur la structure fine des plaques séniles, que nous allons résumer, malgré que le problème ne soit pas encore résolu. D'où il résulte des divergences rencontrées non seulement dans la description de la structure fine des plaques, mais aussi dans l'interprétation des lésions. C'est ainsi que Tinel (1) pense que, dans les derniers stades tout au moins, on puisse déceler la présence de lipoïdes ; comme je l'ai signalé, les coupes traitées par l'éther, le sulfure de carbone ou l'alcool-ammoniaque perdent une partie plus ou moins importante de leur précipité, mais il ne disparaît que d'une façon incomplète dans les plaques jeunes et même insignifiante ou nulle dans les plaques plus âgées.

Tinel croit qu'à ce stade la substance des plaques est plutôt de nature protéique. Elle ne présente ni les caractères des graisses, ni surtout les réactions si caractéristiques des lipoïdes phosphorés. Elle ne contient ni calcium, ni fer, ni phosphore; elle ne présente pas les réactions de la fibrine, non plus que de la substance amyloïde. Par contre, Tinel a pu déceler, à l'intérieur ou au centre des plaques, l'existence de mucine avec la coloration rose si caractéristique que lui donne la thionine ; peut-être faut-il rapprocher ce fait des constatations de Gryndfeldt, qui permettent d'envisager la mucine comme une dégradation possible de la névroglie. Penfield a identifié les mucocytes de Grynfeldt à l'oligodendroglie.

Pour Buscaino (2), la dégénérescence muqueuse de l'oligodendroglie est identique au premier de ses dix types de zones de désintégration en grappe.

En tout cas, la plaque sénile apparaît comme une substance aciculaire simplement superposée au tissu nerveux et qui n'altère en rien ses divers éléments. Il n'existe pas, à ce moment, ni réaction névroglique ni lésion nerveuse. Tout ce que l'on constate, c'est que les cellules et fibres nerveuses qui traversent la plaque, imprégnées qu'elles sont par la substance argyrophile précipitée, peuvent se colorer à ce niveau avec une intensité toute particulière.

Cependant, dans quelques cas de plaques assez anciennes, Tinel a pu constater, d'une part, la démyélinisation locale des fibres nerveuses pendant leur traversée de la plaque. Dans d'autres cas, on peut voir les fibres, légèrement refoulées par la plaque, la

(1) Tinel (J.). — « Les processus anatomo-pathologiques de la démence sénile » (*Revue Neurologique*, juillet 1924).

(2) Buscaino : « Traubenabbauschollen » und « Müköse Degeneration » der glia » (*Deutsch. Zeitschr. f. Nevenheilk.*, vol. 99, nos 4-6).

contourner en s'infléchissant. Toujours d'après Tinel, les plaques séniles plus âgées présentent au contraire un semblant d'organisation ; c'est-à-dire que le précipité n'y présente plus l'aspect granuleux homogène du début, mais au contraire que, par suite d'inégalité dans sa répartition et dans sa composition chimique, il réalise des figures qui pourraient, au premier abord, donner l'impression d'une structure.

C'est ainsi que se constituent les plaques annulaires, où l'on peut distinguer souvent une sorte d'anneau fortement coloré entouré d'une plage claire que borde elle-même une couronne plus dense et plus fortement imprégnée. Ainsi apparaissent également, sur toute l'étendue ou seulement au niveau de la couronne, ces formations en bâtonnets, en épines, en étoiles, sur lesquelles insistait Fischer, et surtout l'aspect filamenteux en forme de pseudo-mycélium qui fit donner à cette lésion le nom de sphérotrichose (Fischer).

Tumbelaka (1) croit que, par suite d'une cause encore inconnue, les cellules nerveuses ou névrogliques, les vaisseaux et les voies de conduction se détruisent dans des endroits circonscrits, surtout dans l'écorce cérébrale. En même temps, il y a formation d'une substance argentophile. Les cellules névrogliques du voisinage réagissent en pénétrant cette substance pathologique, s'y accolent et y envoient des prolongements. La conséquence de la migration des cellules névrogliques est que l'endroit malade est isolé de l'entourage et, en même temps, que le produit pathologique est éliminé du cerveau et, à sa place, il reste une cicatrice névroglique.

L'élimination du produit pathologique argentophile se fait surtout de la manière suivante : les cellules névrogliques émigrées isolent l'endroit où se fait le processus de destruction de son entourage. Plus tard, quand la substance argentophile a été modifiée par ces cellules et écartée, ces dernières se sont substituées à elle. Pour Tumbelaka, il est légitime de supposer que la relation entre les plaques diffuses et les vaisseaux est l'expression d'un transport de la substance argentophile parvenue dans les espaces lymphatiques, vers le système vasculaire, par lequel elle est éliminée du cerveau.

Ley (2) ayant employé pour la première fois la méthode de

(1) Cité d'après Rodolphe Ley (*Livre jubilaire de la Soc. belge de Neurol. et de Psychol.*, Bruxelles, 1922).

(2) Ley (Rodolphe) : « Etude anatomique sur la sénilité » (*Livre jubilaire de la Soc. belge de Neurol. et de Psychol.*, Bruxelles, 1922).

Hortega pour l'étude des plaques séniles, propose l'explication suivante de la genèse de ces formations :

« A la suite de modifications du métabolisme (probablement corrélatives à des troubles circulatoires) dans un tissu nerveux dont les éléments indistinctement sont chargés de produits de désintégration et dont les vaisseaux sont altérés, il se produit une rupture de l'équilibre chimique qui donne naissance à la précipitation d'un produit encore inconnu : ce produit précipité sous forme d'un élément cristaloïde dont la place, par rapport aux éléments cellulaires environnants, est difficile à définir ; mais quand le siège de cette substance au sein des éléments cellulaires est déterminable, on voit qu'il est en rapport avec une cellule de microglie. Ley n'a jamais vu les cristalloïdes agglutinés à l'intérieur d'une cellule de névroglie.

« Certains de ces éléments microgliques renfermant ce dépôt cristalloïde s'entourent d'une zone d'altération qui se manifeste par la présence d'une substance argentophile. La présence de ce produit cristalloïde semble mal tolérée par les axones qui réagissent ; cette action est d'abord irritative, elle devient destructive ensuite par effets locaux et à distance. Autour des points atteints, il se produit une réaction où il semble que la microglie a une part plus importante que la névroglie. La microglie semble faire une tentative pour englober la substance étrangère et en débarrasser le tissu, mais, généralement, elle paraît succomber à la besogne ; il est possible cependant que la microglie s'altère par une action mécanique et chimique de la lésion grandissante ; c'est ce qui explique l'aspect extrêmement compliqué de la plaque à la période d'état ; on y trouve des éléments les plus divers (éléments microgliques et peut-être névrogliques morts, ayant probablement succombé dans la lutte avec la substance étrangère, éléments restés indemnes et qui peuvent même manifester une prolifération active, tels certains éléments de névroglie, restes de dendrites, souvent avec boutons terminaux, etc.). Il est facile de comprendre que cette accumulation d'éléments divers donne souvent des images parfaitement indéchiffrables. »

Timmer (1) a examiné le cerveau d'une femme sénile démente en utilisant non seulement les méthodes courantes, mais aussi celle de Hortega. Ses constatations histologiques lui permettent d'affirmer que le « troisième élément » joue un rôle important dans la constitution des plaques séniles. Celles-ci résulteraient

(1) Timmer (A.-P.) : « Der Anteil der Microglia und Macroglia am Aufbau der senilen Plaques » (*Zeit. f. d. ges. Neur. u. Psych.*, Bd. 98, H. 1-2).

de la confluence des éléments de microglie, subissant un processus de nécrobiose qui donne naissance à des produits de dégénérescence argentophile. L'intervention des astrocytes est tardive et forme une cicatrice de démarcation autour des plaques. D'ailleurs, plusieurs auteurs ont affirmé que la névroglie joue un rôle essentiel dans la formation des plaques, mais cet élément, comme le remarque Bielschowsky, ne peut pas être considéré comme le substratum exclusif des plaques, fait que nous pouvons confirmer aussi. Timmer se figure de la façon suivante le développement des plaques séniles. Il se produit, d'après cet auteur, dans le cerveau sénile, des substances toxiques de cause inconnue, dues peut-être à des lésions rénales existant chez les vieillards, comme tendrait aussi à le prouver la présence des attaques épileptiques et les troubles délirants qui existent dans la maladie d'Alzheimer. La microglie est mobilisée dans le but de phagocyter et transporter ces substances. Elle commence à se tuméfier et se dirige du côté où apparaissent les substances toxiques. Mais, comme il s'agit de cellules séniles de microglie, elles ne peuvent plus accomplir leur tâche comme chez les sujets jeunes. Chez les sujets vigoureux, les cellules de microglie absorbent vite les produits toxiques, les transportent et ensuite disparaissent. Chez le vieillard, le processus a une évolution lente ; la microglie prend les substances toxiques, mais elle ne peut plus les transformer si rapidement, car leur activité est ralentie et elles se détruisent lentement. Sitôt que la microglie se détruit, de nouvelles cellules de microglie absorbent les débris cellulaires avec les substances toxiques. Il s'ensuit une plaque composée par des cellules microgliales. Lorsqu'il s'est formé un amas de cellules de microglie, c'est-à-dire une plaque, la névroglie proprement dite commence à réagir, mais, comme ces cellules sont moins mobiles, elles réagissent plus lentement et circonscrivent le foyer. A la fin, la masse de substances toxiques est détruite et résorbée par les cellules de microglie ou bien par le courant lymphatique, et transformée en des substances inoffensives. Il n'en reste qu'un anneau constitué par la macroglie qui, à son tour, peut aussi disparaître.

Urechia et Elekes (1) ont également appliqué la méthode de Hortega à l'étude des plaques séniles. Il résulte de leurs recherches que les plaques séniles sont constituées en majorité par des cellules de microglie qui se disposent, assez souvent, sous forme

(1) Urechia (C.-I.) et Elekes (N.) : « Contribution à l'étude des plaques séniles. Rôle de la microglie » (*Bulletin de l'Académie de médecine*, n° 28, séance du 15 juillet 1925).

de rosettes et qui présentent progressivement des altérations régressives ou nécrotiques. Les plaques fibrillaires sans noyaux ou substance centrale sont des formations plus vieilles et plus évoluées. Il est incontestable que les cylindraxes prennent part aussi dans la structure des plaques, nous présentant les aspects bien connus. En essayant de dépister dans la plaque si la réaction des cylindraxes est prémonitoire, concomitante ou secondaire aux altérations de la microglie, les auteurs ont acquis l'impression que les cylindraxes réagissent le plus souvent dès le commencement de la formation des plaques et probablement après que les altérations de la microglie se produisent. Urechia et Elekes ont l'impression qu'il existe des plaques où la réaction des cylindraxes est insignifiante ou même nulle.

En ce qui concerne la névroglie sur des pièces où elle est imprégnée en même temps que la microglie, on constate qu'elle a un rôle assez réduit. Elle peut envoyer des fibrilles à l'intérieur des plaques, et Urechia a observé cela dans la couronne névroglique et mésoglique qui limitait un foyer de ramollissement. Dans cette capsule, avec des cellules névrogliques géantes et de nombreuses cellules microgliques qui se transformaient en partie en cellules réticulées, Urechia a trouvé plusieurs plaques séniles. Mais la question se pose, dans ce cas, de savoir si la névroglie envoie des fibres d'une manière active expressément dans la plaque, ou bien si la plaque s'est formée dans un tissu qui contenait ces fibrilles névrogliques et qu'elle ne fait qu'englober passivement. Quoiqu'il soit difficile de répondre précisément à cette question, Urechia et Elekes sont d'avis que la névroglie ne prend que très rarement une part active dans la formation des plaques.

Comme moi-même, les auteurs ont constaté que le traitement préalable des coupes avec les dissolvants des graisses rend invisible une grande partie des éléments de la plaque. Je suis d'avis que ces dissolvants agissent sur les substances lipoïdiques qui prennent part à la constitution de la plaque. Urechia et Elekes confirment ces observations en ce qui concerne la méthode de Bielschowsky. Ils ont soumis, en effet, des coupes pendant cinq heures à la température de 40°, à l'action du chloroforme, de l'éther et de l'alcool. La méthode de Bielschowsky sur ces pièces dégraissées ne montrait aux auteurs que très peu de plaques pâles, avec les caractères que j'ai décrits moi-même. Ayant mordancé de nouveau ces pièces par du formol à 20 %, le résultat a été le même. En appliquant le même traitement préalable à des sections colorées ensuite par la méthode de Hortega, Urechia et

Elekes ont constaté que les plaques se coloraient tout aussi bien que celles qui avaient subi l'action de l'éther, du chloroforme et de l'alcool.

Il résulte donc que les plaques ne contiennent pas de substances lipoïdes. Le traitement par les dissolvants des graisses empêche la coloration de Bielschowsky, mais n'a aucun effet sur celle de Hortega. S'il s'agissait de lipoïdes, il faudrait qu'ils ne se colorent par aucune méthode après avoir été traités par des dissolvants appropriés. En appliquant la méthode de Hortega sur des pièces dégraissées, mais en employant de l'hydrate de soude au lieu de carbonate de soude, les plaques ne se colorent plus que très faiblement.

Rizzo (1), après avoir fait usage d'une imprégnation plus ou moins spéciale des centres nerveux, en évitant le passage dans l'alcool et l'inclusion, affirme qu'il est difficile ou rare de distinguer dans la plaque un noyau d'une partie périphérique.

Le tissu nerveux dans les régions occupées par les plaques, présente une vulnérabilité spéciale à l'égard de réactifs fixateurs. D'habitude, les plaques qui n'ont pas acquis un grand volume sont situées entre les cellules nerveuses, mais, lorsqu'elles atteignent une certaine dimension, elles englobent indubitablement des cellules nerveuses et névrogliques.

Rizzo n'a pas constaté la zone *X* de Tumbelaka, et les fibres myéliniques comprises dans les plaques gardent leur structure normale. Il n'a pas pu constater, à l'aide de la méthode utilisée, l'aspect des fibres nerveuses interprété comme phénomènes de régénérescence.

Les cellules nerveuses et névrogliques se trouvant dans l'épaisseur de la plaque offrent un chimisme altéré, mais ne présentent pas de phénomènes de désintégration. La réaction névroglique autour de la plaque n'est pas constante et les cellules névrogliques ne jouent aucun rôle dans la désintégration de la substance argentophile de celle-ci.

Pour Rizzo, les plaques graisseuses décrites par Laignel-Lavastine et Tinel sont des artifices de technique. Entre les plaques séniles et les plaques graisseuses, il n'y a pas de formes de transition, et les dernières sont biréfringentes, résultant de la décomposition *in vitro* des lipoïdes du tissu nerveux.

Relativement à la topographie des plaques, Rizzo a constaté que ce sont les lobes frontaux et l'insula qui sont plus riches en

(1) Rizzo (Cr.) : « Contributo all'istologia patologica della senilita » (*Rivista di patologia nervosa e mentale*, fasc. 5-6, 1924).

plaques séniles. On peut les retrouver également dans la substance blanche sous-corticale. Rarement elles affectent des rapports avec les capillaires. La névroglie ne participe pas à l'altération cellulaire d'Alzheimer, qui dépend exclusivement de lésions des neurofibrilles intracellulaires. Rizzo a retrouvé cette altération dans douze cas de plaques séniles. Bolsi (1) admet que les plaques séniles proviennent d'une altération chimique de la substance fondamentale interstitielle, qui constitue le milieu dans lequel vivent les éléments morphologiques du tissu nerveux. Cette substance fondamentale subit des modifications au cours de la sénilité, dues aux causes toxiques ou involutives. C'est surtout dans l'hippocampe que s'observe cette modification chimique, laquelle est due probablement aux troubles circulatoires.

Dans la première phase, les plaques sont présentées par des petits foyers de substance argentophile qui donnent naissance à une altération chimique et attire les cellules de microglie en vertu d'une action chimiotactique. On voit alors dans la plaque des cellules microgliques hypertrophiées qui dégénèrent, se transforment en une substance nécrotique et contribuent à l'augmentation de la substance anormale qui constitue la plaque. Les mêmes cellules de microglie désagrégées forment le noyau de la plaque classique qui se présente sous forme de roue. L'oligodendroglie ne prend pas part à la formation des plaques comme la microglie. La névroglie ne réagit que d'une manière inconstante et offre l'aspect de lésions chroniques. L'auteur admet que les plaques peuvent persister indéfiniment ; il remarque aussi, comme je l'avais fait antérieurement, que la morphologie et la répartition des plaques est en rapport avec la méthode utilisée. En effet, certaines de ces méthodes mettent en évidence la substance argentophile ; d'autres, par contre, les éléments morphologiques des plaques. Mais un fait important au point de vue de la structure des plaques, c'est que la méthode à l'argent glycériné utilisée par l'auteur montre que la plaque n'est pas constituée exclusivement de microglie, car on trouve aussi, en dehors de nombreuses cellules de microglie, une substance d'aspect granuleux ou filamenteux en rapport avec le mode d'imprégnation, et il serait téméraire d'affirmer qu'elle est due à un détritus de la microglie. Par conséquent, une plaque sénile est constituée par des éléments de microglie altérée et d'une substance argentophile

(1) Bolsi : « Contributo all'istologia patologica della senilita » (*Rivista di patologia nervosa e mentale*, n^{os} 5-6, 1924).

sans structure bien définie et dont l'aspect varie avec la méthode de fixation et d'imprégnation.

La première phase de la plaque est constituée par de petites accumulations de substance argyrophile. Puis, dans une seconde phase, les cellules de microglie siégeant au voisinage du foyer réagissent, tandis que les éléments nerveux et névrogliques ne prennent pas part à la formation des plaques.

Comme la méthode de Hortega imprègne d'une façon élective la microglie, on serait tenté d'admettre que la substance argyrophile qui adhère à la microglie ne serait qu'un produit de désintégration de celle-ci, et, par conséquent, la plaque serait tout simplement constituée par une altération nécrotique de la microglie, opinion émise et soutenue indépendamment par Urechia et Elekes, et d'autre part par Timmer.

Bolsi conclut qu'il est exclu que les plaques séniles dérivent des cellules nerveuses et névrogliques, mais qu'elles tirent leur origine d'un changement chimique de la substance fondamentale interstitielle, qui constitue le milieu où vivent les éléments morphologiques du parenchyme nerveux, substance qui est modifiée, pendant la sénilité à cause de l'involution ou de l'intoxication. C'est surtout dans l'hippocampe qu'on voit cette modification chimique, provenant, probablement, de troubles circulatoires. Comme on le verra plus loin, mes recherches concordent, en grande partie, avec celles de Bolsi.

Enfin Bolsi trouve que la distribution des plaques dans le cortex cérébral est très variable. Cependant il a constaté que, dans la dernière couche, leur nombre est moindre que dans les autres couches. Il a vu très fréquemment que les plaques de grande dimension se trouvent dans les couches corticales plus profondes, tandis que, dans les couches superficielles, prédominent les plaques de petite dimension. Mais c'est surtout dans la corne d'Ammon qu'il a noté des plaques dans les couches « lamina ventralis », radiaire, lucide, et des cellules polymorphes, tandis que les couches limitrophes en étaient complètement dépourvues.

MM. Creutzfeldt et Metz (1), qui ont fait une étude sur le comportement et l'activité des cellules microgliques dans le processus pathologique, s'occupent également et figurent des plaques séniles, à la périphérie desquelles on voit des cellules de microglie. Ils

(1) Creutzfeldt (H.-G.) et Metz (A.) : « Ueber Gestalt und Tätigkeit der Hortegazellen bei pathologischen Vorgänge » (*Zeitschr. f. d. ge. Neur. und Psychiatrie*, vol. 106, nos 1-2).

n'admettent pas que celles-ci participent à la formation du noyau des plaques, ni à la constitution du feutrage de la couronne. Ce dernier, comme le noyau, est soit sous la dépendance des altérations de la substance fondamentale, ou bien des matières qui se déposent dans cette substance fondamentale. Ces auteurs ont décrit en 1921, comme moi en 1912, des astrocytes hypertrophiées donnant naissance à des fibres au voisinage de la plaque.

A son tour, Giacanelli (1) affirme que l'aspect des plaques séniles dépend de la méthode employée. La partie amorphe constitue des blocs plus ou moins argentophiles, se colore bien par la méthode de réduction et moins bien avec les couleurs basiques. L'auteur n'admet pas l'opinion des observateurs ayant décrit une réaction névroglique qui ferait une espèce de capsule autour de la plaque. Il croit, comme moi d'ailleurs, que la réaction névroglique est secondaire et que l'existence exceptionnelle des nodules névrogliques n'a rien à voir avec les plaques séniles. C'est pour cette raison qu'il rejette l'opinion des auteurs qui font dériver les plaques des cellules névrogliques, que ce soit comme élément de substitution ou de néoformation.

L'auteur n'est pas encore fixé si la partie amorphe, qui a une affinité si accusée pour l'argent, représente un produit de nouvelle formation, c'est-à-dire d'un dépôt de substance spéciale dans le tissu, ou il s'agirait encore de fragments de neurofibrilles devenus très argentophiles à cause des troubles du métabolisme consécutifs à des troubles circulatoires.

II

Techniques pour la mise en évidence des éléments constitutifs des plaques séniles.

Sans doute que l'évolution de nos connaissances sur la structure intime des plaques séniles est due, en première ligne, aux perfectionnements de la technique histologique, car c'est la méthode qui crée les résultats, comme l'a fort bien dit Descartes. De sorte qu'on peut dire que nos connaisances ont parcouru autant d'étapes qu'il y a eu de méthodes utilisées.

Depuis les nodules de « névroglie », terme utilisé par Blocq et moi, et « sclérose miliaire » de Redlich, mis en évidence par les

(1) Giacanelli (Vittor-Ugo) : *Relievi istopatologici nuovi e considerazioni su la presbiofrenia.* Perugia, 1927.

colorants habituels, jusqu'à la méthode de Hortega pour l'imprégnation de la microglie, en passant par la méthode de Bielschowsky et celle de Cajal pour les fibres nerveuses, la connaissance intime des plaques a traversé autant de périodes que de méthodes utilisées. Aussi il me semble nécessaire d'indiquer, d'une façon sommaire celles qui nous ont servi récemment :

I. — 1° Fixation dans le formol, 10 % ; blocs de 2 millimètres d'épaisseur ;

2° Alcool à 96°, douze à vingt-quatre heures ;

3° Laver à l'eau distillée; nitrate d'argent, 1,5 % avec 10 % de pyridine, à l'étuve à 39°, vingt-quatre à quarante-huit heures;

4° Lavage rapide à l'eau distillée, réduction pendant dix à douze heures dans :

Acide pyrogallique, 2 %	90 cmc.
Pyridine	10 cmc.

Lavage à l'eau distillée pendant quelques heures.

Sections à la congélation ou déshydratation, inclusion, etc.

Cette méthode met en évidence le plus fin précipité de substance argentophile et, par contraste, on peut voir le noyau central qui se teint en jaune, tandis que la couronne, fortement argentophile, est constituée par une substance filamenteuse enchevêtrée. Elle a été plus ou moins avantageusement modifiée par d'autres auteurs et même remplacée par la méthode de Jahnel pour l'imprégnation des spirochètes. Mais les résultats sont les mêmes que ceux que nous avons obtenus par la méthode susindiquée.

II. — La méthode de Bielschowsky nous permet d'étudier à la fois le précipité, le noyau central et la lésion d'Alzheimer. Le contraste entre le parenchyme et la substance argentophile n'est pas si marqué qu'avec la méthode précédente. Elle permet en outre d'étudier l'altération des fibres nerveuses situées à la périphérie des plaques et les phénomènes de régénérescence.

III. — La méthode de Cajal pour les neurofibrilles à l'alcool ammoniaque ou la modification de Doinikow.

Dans les pièces traitées par cette méthode, la substance argentophile reste plus ou moins invisible, tandis que les phénomènes de régénérescence et la lésion d'Alzheimer sont très apparentes. Si M. Rizzo avait utilisé cette méthode, il aurait pu se convaincre de l'existence de pareils phénomènes.

IV. — La méthode de Hortega pour la microglie utilisée par

Ley (1) pour la première fois, puis par Urechia (2), Bolsi (3), Timmer (4) et nous-même (5), permet de constater les lésions de la microglie et leur rôle dans la phagocytose.

Pour un résultat plus expressif, nous traitons les coupes, imprégnées par la méthode de Hortega, par la coloration au Scharlach-hématoxyline.

La méthode de Hortega pour l'imprégnation de la microglie et la coloration successive par le Soudan, qui est très utile, nous permettent d'assister aux diverses métamorphoses des cellules de microglie et de saisir, dans une certaine mesure, le mécanisme de l'évolution des plaques séniles. C'est là la raison pour laquelle on ne trouve pas deux plaques absolument identiques, car elles nous offrent des images différentes d'une transformation continuelle.

Pour la structure des noyaux de la plaque, nous avons utilisé le Giemsa sur des coupes traitées par la première méthode indiquée ci-dessus, après avoir décoloré les coupes avec du borax-ferricyannure de kalium.

On peut ensuite avoir recours, selon les indications de M. Divry, à la coloration par le rouge de Congo, à la solution de Lugol, au microscope polarisant. Enfin, pour les rapports des plaques séniles avec la névroglie protoplasmique et fibreuse, nous avons utilisé, avec grand avantage, la méthode excellente de Ramon y Cajal et celle de Lhermitte.

Plusieurs auteurs ont utilisé le microscope polarisant pour étudier les plaques séniles, et le résultat a été que les plaques sont isotropes.

M. Divry (6), ayant répéré les plaques sur des coupes à la congélation, a constaté que les plaques présentent une certaine réfringence, surtout au niveau de leur noyau : en employant le micros-

(1) Ley (Rodolphe) : « Etude anatomique sur la sénilité » (*Livre jubilaire de la Soc. belge de Neur. et de Psychol.*, Bruxelles, 1922).

(2) Urechia (C.-I.) et Elekes (N.) : « Contribution à l'étude des plaques séniles. Rôle de la microglie » (*Bull. de l'Acad. de médecine*, Paris, n° 28, 1925).

(3) Bolsi (Cristoforo) : « Contributo all'istologia patologica della senilità » (*Riv. di patol. ner. e ment.*, nos 5-6, 1924).

(4) Timmer (A.-P.) : « Der Anteil der Mikroglia auf Aufbau der senilen Plaques » (*Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psych.*, 98, nos 1-2, 1925).

(5) Marinesco (G.) : « Sur une forme spéciale d'ataxie aiguë » (*Rev. Neur.*, octobre 1927), et « Etudes sur le mécanisme histobiochimique de la vieillesse et du « rajeunissement », in *Verhandlung des I. internat. Kongres. für sexualforschung* (octobre 1926).

(6) Divry (Paul) : « Etude histochimique des plaques séniles » (*Journ. de Neurol. et de Psychiatrie*, n° 9, 1927).

cope polarisant, les nicols étant croisés. Cependant, dans la plupart des cas, toute la plaque est isotrope. Mais si l'on traite au préalable la coupe par la solution de Lugol, on aperçoit que les noyaux des plaques séniles deviennent biréfringents : il s'agit d'une biréfringence légère, mais suffisante pour compter tous les noyaux des plaques se détachant en petits points lumineux sur le fond obscur du champ microscopique. Dans ces conditions, la couronne de la plaque conserve son isotropisme. Quand le noyau examiné est d'un certain volume, il présente une croix de polarisation, qui se déplace dans le sens des légers mouvements de rotation que l'on peut imprimer à l'analyseur : si l'on tourne celui-ci alternativement et légèrement, dans le sens dextrogyre et levogyre, on observe que les deux quadrants diagonalement opposés s'allument, alors que les deux autres s'éteignent réciproquement suivant le sens de la rotation. Si l'on intercale une lame de gypse entre l'analyseur et l'objet, les nicols étant croisés de façon à se rendre compte des couleurs d'interférence que présentent ces sphéro-cristaux, on s'aperçoit que, dans ces conditions, deux quadrants de ceux-ci sont bleus et les deux autres jaunes ; les deux quadrants bleus sont le supérieur droit et l'inférieur gauche : les deux jaunes, le supérieur gauche et l'inférieur droit.

III

Constatations personnelles sur la structure des plaques séniles.

Nos recherches actuelles sont basées sur l'étude de deux cas où nous avons constaté la présence des plaques séniles. Dans le premier cas, il s'agit d'une femme âgée de quatre-vingt-dix ans, apportée dans le service dans un état comateux relevant d'une hémorragie cérébrale dont la topographie était la suivante:

En dehors d'une athéromatose très accusée des vaisseaux de la base du cerveau, il y avait, dans le domaine de la sylvienne gauche, un foyer hémorragique qui détruisait presque complètement la couche optique, le segment postérieur et moyen de la capsule interne.

En ce qui concerne les antécédents de la malade, nous n'avons pas pu obtenir des renseignements.

Le second cas concernait une femme relativement jeune, car

elle était âgée de quarante-cinq ans, atteinte de polynévrite et qui avait présenté certains troubles psychiques, ce qui s'explique par l'association de la polynévrite avec les plaques séniles dans le cerveau.

Nous avons utilisé la plupart des méthodes connues actuellement pour l'étude histologique de ces deux cas, et surtout la méthode de Hortega et celles préconisées par M. Divry pour préciser la nature des noyaux de la plaque.

Pour ce qui a trait aux constatations faites dans le premier cas, nous avons vu que le premier phénomène qui caractérise les plaques, c'est l'apparition dans le parenchyme nerveux, parfois tout près de cellules nerveuses et des vaisseaux, ou même à la surface des unes et des autres, de petits flocons, de bâtonnets, isolés ou réunis, constituant des petits amas étoilés ou des conglomérats ronds, tranchant par leur coloration noire foncée ou brun-chocolat, dans les coupes imprégnées par l'argent, avec le fond jaune du parenchyme. (Fig. 1.)

Nous n'avons pas à revenir sur la forme variable qu'affectent par leur réunion les petits bâtonnets. C'est là un fait confirmé par tous les auteurs qui ont pratiqué, comme nous l'avons fait déjà en 1912, la méthode de Ramon y Cajal sur des pièces fixées dans le formol, traitées ensuite par l'alcool à 90°, imprégnation des blocs par le nitrate d'argent et réduction par l'acide pyrogallique. Il faut éviter l'alcool-ammoniaque, l'inclusion à la celloïdine et pratiquer des coupes à la congélation. C'est la même méthode qui, légèrement modifiée, a été employée depuis par d'autres auteurs. La question qui se pose est de savoir si cette substance argentophile est l'expression d'une modification du soi-disant réseau névroglique, c'est-à-dire si elle dépend tout simplement d'une altération d'un élément du parenchyme de l'écorce cérébrale ou s'il s'agit là d'un dépôt de substance sur la nature de laquelle nous allons revenir. La méthode de Cajal, qui met en évidence avec une grande finesse la névroglie protoplasmique et fibreuse, ne nous montre pas (fig. 2) de relation entre les ramifications fines de la névroglie et la substance précipitée, et cela nous paraît une preuve en faveur de l'opinion que les bâtonnets et les filaments que nous avons décrits représentent autre chose

(1) Marinesco (G.) : « Etude anatomique et clinique des plaques dites séniles » (*L'Encéphale*, 10 février 1912).

Marinesco (G.) et Minea (I.) : « Untersuchungen über die senilen Plaques » (*Monatsschrift für Psychiatrie und Neurologie*, Ergänzungsheft, 1912).

que les ramifications de la névroglie. D'ailleurs, au commencement du dépôt argyrophile, les ramifications fines de la névroglie ne subissent pas de transformations en contact avec ce dépôt. Ce n'est que tardivement que ces prolongements se modifient et que la cellule névroglique protoplasmique subit la transformation fibreuse (fig. 2). Nous pouvons donc conclure que la matière argentophile ne dérive pas d'une transformation du réseau dit névroglique.

Nous ne pouvons pas non plus admettre, avec MM. Urechia et Elekes, que les cellules d'oligodendroglie altérées conduisent aux formations que j'ai décrites sous forme d'étoiles, ou bien que les cellules d'oligodendroglie peuvent se voir entrer en relation avec les cellules de Hortega pour former un petite plaque.

Nous pensons qu'on doit distinguer tout au moins trois espèces de plaques.

Il y a tout d'abord celles qu'on pourrait désigner du nom de plaques amicrogliques, constituées surtout par un dépôt argentophile assez lâche, à contour irrégulier du fait de l'extension inégale de sa périphérie. Ces plaques acellulaires ont une constitution granulaire, bacillaire, en filaments enchevêtrés. Elles ne paraissent pas avoir de relations avec la microglie, ou bien celle-ci n'a pas réagi, étant donné la distance qui sépare les cellules microgliques, ou encore parce que la chimiotaxie n'est pas suffisante pour attirer la microglie.

Nous avons ensuite les plaques formées presque exclusivement par les prolongements tuméfiés et ramifiés des cellules de microglie (fig. 3). Il s'agit ici d'une espèce de polarité des cellules de microglie, car un des prolongements cellulaires se ramifie et produit une arborescence courte et délimitée par la périphérie de la plaque. Entre ces ramifications, on peut apercevoir des fragments de parenchyme nécrosé, mais pas de dépôt visible. Les cellules de microglie qui forment ces plaques contiennent des lipoïdes à leur intérieur.

C'est la troisième forme de plaque qui représente la phase adulte, où l'on voit l'évolution de la microglie et la formation du noyau central. Ces plaques sont formées essentiellement par une couronne argentophile constituée par des filaments enchevêtrés, puis il y a un espace clair et, dans le centre, on constate une ou plusieurs cellules de microglie, à un ou plusieurs noyaux picnotiques. Les prolongements de la cellule microglique sont quelque peu gonflés lorsqu'ils traversent l'atmosphère de précipité argentophile et, à la sortie de la plaque, ils deviennent plus

argentophiles. Les cellules microgliques du voisinage de la cellule principale perdent leurs prolongements partiellement ou totalement pour prendre la forme amiboïde, et, leur tension de surface étant diminuée, elles absorbent les débris du parenchyme, ce qui nous explique qu'elles soient bourrées de lipoïdes (fig. 4, 5 et 6).

A une phase plus avancée, la cellule centrale microglique perd ses prolongements, le corps cellulaire gonfle et exerce son pouvoir phagocytaire. D'autres fois, il n'y a que les cellules situées à la périphérie du corpuscule central qui perdent leurs prolongements et sont bourrées de lipoïdes, tandis que les prolongements des autres cellules qui traversent la plaque persistent et sont argentophiles (fig. 7 et 8).

Enfin parfois la région centrale est constituée en grande partie par des cellules microgliques arrivées à la phase amiboïde et surchargées de lipoïdes. Mais, en dehors de cette activité phagocytaire et de la transformation des cellules microgliques, il y a des plaques à noyau central constitué par un corpuscule biréfringent qui est un sphéro-cristal (fig. 9), fait mis en évidence récemment par M. Divry (1).

Il s'agit d'un processus de dégénérescence spéciale de ce corpuscule central énigmatique.

M. Divry pense qu'il s'agit là de la dégénérescence amyloïde, car, en traitant les coupes par le Lugol ou par le Lugol suivi de l'action d'une solution à 1 % d'acide sulfurique, les noyaux des plaques séniles présentent la réaction à l'iode et la réaction iodo-sulfurique propres à l'amyloïde ; leur couronne ne donne pas ces réactions. En outre, les noyaux des plaques séniles présentent, aux couleurs basiques d'aniline et au rouge Congo, les réactions caractéristiques de l'amyloïde.

Je dois cependant ajouter que, dans les pièces qui ont séjourné peu de temps dans le formol, le traitement par le Lugol nous montre, le plus souvent, une teinte gris bleuâtre des plaques (fig. 10), couleur qui ne vire pas toujours en brun par l'acide sulfurique.

Dans les pièces qui ont séjourné plus longtemps dans le formol ou bien qui ont été examinées un à deux jours après les avoir préparées, on constate, le plus souvent, une couleur brun-acajou.

Nous avons fait une courte communication à la Réunion de Biologie de Bucarest, dans la séance du 7 juin 1928, en collaboration avec M. S. Bratiano, sur la présence du phénomène de la

(1) Divry (Paul) : « Etude histochimique des plaques séniles » (*Journ. de Neurol. et de Psychiatrie*, n° 9, 1927).

croix de polarisation dans le corpuscule central des plaques séniles (fig. 9).

Nous avons pu confirmer les constatations intéressantes de M. Divry, et affirmer, d'une façon certaine, qu'il s'agit là d'une dégénérescence analogue à l'amyloïde. C'est ainsi que, dans les coupes traitées par le rouge Congo, nous voyons que ce noyau central se teint en rose (fig. 11), que le Lugol le colore en gris foncé, parfois avec une nuance bleuâtre ou verdâtre, et cette coloration peut se remarquer aussi dans les filaments qui partent de la périphérie du noyau central et même dans les substances de la couronne de la plaque. D'autres fois, ce n'est que le noyau central qui se colore. Exceptionnellement, j'ai trouvé que la couronne peut se colorer en vert et le noyau en brun rougeâtre. Si l'on traite la pièce par le Lugol et ensuite par l'acide sulfurique et si on l'examine quelque temps après, on constate que le centre de la plaque prend une teinte brun-acajou.

Il est à remarquer que, là où l'on rencontre des corpuscules amylacés très nombreux, ils prennent une teinte brun rougeâtre, tandis que dans les pièces traitées par Lugol + acide sulfurique, leur nuance est violacée. Par conséquent, par le traitement avec le Lugol simple ou suivi d'acide sulfurique, le noyau central des plaques et les corpuscules amylacés ne prennent pas la même teinte. Cette différence de constitution chimique est encore plus évidente si on fait usage de la méthode de Best. Le noyau central n'est jamais coloré par cette méthode, tandis que les corps amylacés le sont en rouge carminé ou en rouge violet. En outre, la coloration classique de l'amyloïde par le violet de gentiane n'a pas d'action sur le noyau central, tandis que le rouge Congo colore aussi bien l'un que l'autre.

C'est Perusini (1) qui, dans son travail sur la maladie d'Alzheimer, a signalé l'affinité de certaines réactions colorantes pour le corps amyloïde et la substance qui constitue la plaque.

A son tour, Bielschowsky (2) a été surpris par le nombre extraordinaire de corpuscules amyloïdes qui existaient dans son cas et coïncident avec les plaques séniles ; ils se teignent en noir par la méthode qui porte son nom. Certains d'entre eux offrent une structure homogène, d'autres possèdent une stratification concen-

(1) Perusini : « Ueber Klinisch und histologisch eigenatige psychische Eskrankungen des späteren Lebensaltes » (*Histol. Arb. Nerausgeg. von Nissl u. Alzheimer*, vol. 3, n° 2, 1909),

(2) Bielschowsky : « Zur Kenntnis der Alzheimeschen Krankheit » (*Journ. für Psychol. und Neurol.*, vol. 18, Ergänzungsheft, 1, 1911).

trique. Les corpuscules amyloïdes qui sont lobulés offrent l'aspect de petites plaques. Une partie de ces corpuscules se composent de deux régions très nettes : l'une intérieure, foncée, présentant les anneaux concentriques bien connus et une zone externe plus claire, formée par une couronne d'aiguilles fines. La présence de cette zone circulaire représente, d'après Bielschowsky, un anneau de la chaîne qui unit les plaques aux corpuscules amyloïdes. Mais il ajoute une autre remarque intéressante. C'est qu'en dehors de l'affinité des plaques et des corps amylacés pour l'argent ammoniacal, l'auteur a constaté que les plaques offrent, quoiqu'à un degré moins intense, la réaction de la substance amyloïde pour l'iode, et c'est surtout la zone centrale homogène des plaques qui présente, assez souvent, une nuance brun foncé assez caractéristique. En traitant les coupes de cerveau dans son cas de maladie d'Alzheimer par la méthode de Herxheimer pour les lipoïdes et de Benda pour les acides gras, Bielschowsky, sans être très affirmatif, admet que la substance des plaques serait un mélange d'acides gras et de substances amyloïdes.

Nous avons été frappé par le grand nombre de particules argentophiles et de gouttes de lipoïdes dans un certain nombre de cellules microgliques siégeant dans la plaque. A ce point de vue, on doit distinguer des plaques qui ne contiennent de pareilles phagocytes et d'autres qui en sont pourvues, constituant à elles seules le centre de la plaque. Ces phagocytes jouent un rôle important dans l'évolution de celle-ci, en modifiant l'aspect et le volume du noyau central et les ramifications des cellules de microglie. On dirait que des phagocytes d'origine microglique changent leur tension de surface et, par l'élaboration des ferments hydrolytiques, modifient la région extérieure du noyau de la plaque, favorisant ainsi la phagocytose, ce qui se traduit par la présence de granulations argentophiles à leur intérieur. Probablement à l'aide d'une lipase, elles digèrent les lipoïdes du parenchyme nerveux au niveau de la plaque (fig. 11).

Dans la figure 12, nous avons fait représenter une plaque sénile d'un aspect plus ou moins particulier. En effet, elle est constituée par une masse de détritus, à la périphérie de laquelle on aperçoit plusieurs cellules de microglie qui envoient leurs ramifications dans la plaque, mais on ne voit pas de continuité entre ces ramifications et la substance granulaire de la plaque. Néanmoins, il est possible, voire même problable, que la régénérescence des ramifications plus fines de la microglie prenne part à la constitution du détritus sus-mentionné.

A droite de la plaque, on voit un petit capillaire et, en bas, une cellule nerveuse dont le protoplasma est surchargé de lipoïdes.

Il y a enfin d'autres plaques dont le centre est constitué par une cellule de microglie en voie de dégénérescence hyaline (fig. 13).

C'est sans doute la microglie qui joue un rôle important dans la constitution de la plaque, ainsi que l'ont montré, d'une part Urechia et Elekes, et d'autre part Timmer, et plus récemment Bolsi, mais la réaction et la dégénérescence de la microglie est un phénomène secondaire et non pas primitif. Ce qui nous confirme dans notre manière de voir sur le mécanisme colloïdal de la formation des petites étoiles et des amas constituant le début de la plaque sénile, c'est la coexistence de cette dernière avec la lésion des neurofibrilles connue sous le nom de lésion d'Alzheimer.

Les lésions de la microglie sont nombreuses et à peu près caractéristiques pour la sénilité accompagnée de plaques, car l'activité phagocytaire de la microglie est dirigée contre une altération spéciale. Il en résulte une allure particulière, soit à la période de réaction de la microglie, soit à la période de dégénérescence de celle-ci, qui conduit à la biréfringence.

Les phénomènes de polarité des cellules microgliques et leur altération dans la plaque de leur action phagocytaire, de même que la formation des corpuscules centraux et l'arborescence produite par les ramifications de microglie, constituent un ensemble de lésions qu'on ne rencontre pas dans d'autres maladies. Mais il y a des plaques avec une couche zonale qui n'est pas constituée uniquement, comme le soutiennent MM. Urechia et Elekes, par des ramifications de microglie, car je pense, comme M. Bolsi, que la couche zonale est formée par un précipité spécial dans lequel se perdent les ramifications les plus fines de la microglie et y subissent parfois le même processus de dégénérescence que le noyau central, car il peut donner la réaction avec le Lugol.

Les plaques séniles, la lésion d'Alzheimer, les corpuscules amylacés et la surcharge des cellules nerveuses et névrogliques, de même que l'altération plus ou moins spéciale de la microglie, sont des phénomènes qui entrent dans le cadre pathologique de la sénilité chez l'homme. Ils paraissent être en relation avec les troubles des phases colloïdales du tissu nerveux, dont l'équilibre est gouverné par les ferments oxydants et hydrolytiques. J'ai décrit ailleurs le rôle des ferments et de l'évolution des colloïdes

dans la sénilité (1), en montrant que celle-ci relève d'un processus compliqué, mais fatal, en concordance avec les lois de l'évolution de la matière vivante.

Les plaques séniles et la lésion d'Alzheimer sont l'expression de la sénilité du cerveau; mais, comme celle-ci n'est pas gouvernée seulement par le nombre d'années, car je n'ai pas trouvé de plaques ni la lésion d'Alzheimer dans tous les cerveaux des sujets très âgés, on doit rapporter ces lésions à la marche plus rapide du déséquilibre colloïdal des phases; et de cette façon on peut dire que l'on a l'âge de son cerveau. C'est là la raison pour laquelle on rencontre des plaques séniles chez des personnes qui ne sont pas très avancées en âge.

Pour ce qui a trait aux rapports qui peuvent exister entre les troubles psychiques et les plaques, il est évident qu'on doit tenir compte en première ligne du siège et du nombre de ces plaques. Il n'est pas possible d'affirmer que le cerveau parsemé d'un grand nombre de plaques neurotisées puisse correspondre à un état psychique normal. D'ailleurs, il faut examiner l'état mental des vieillards avec les tests psychologiques et, d'une façon détaillée, avant d'affirmer la présence ou l'absence de troubles psychiques.

Dans notre second cas, se référant à une femme âgée de quarante-cinq ans ayant présenté des phénomènes de polynévrite, nous avons décelé la présence des plaques dites séniles et nous sommes convaincu du rôle essentiel qu'y jouent les cellules de microglie.

Ici, on voit que le noyau central est en réalité constitué par l'altération des noyaux de microglie offrant une forte ressemblance avec la dégénérescence amyloïde. On peut distinguer des plaques volumineuses dans lesquelles, en dehors du noyau central, on voit des phagocytes surchargés des lipoïdes siégeant au voisinage du noyau central, dont le contour est parfois rayonnant. Le nombre et la structure des cellules de microglie des plaques est variable. Dans les plaques jeunes, le noyau central est bien une cellule de microglie, et, de sa périphérie, il se détache des prolongements qui peuvent traverser la plaque. On a l'impression que, dans les petites plaques où sont logées ces cellules microgliques centrales et dont les prolongements se perdent dans la couronne pendant que d'autres la traversent, elle est constituée essentiellement par la microglie. Quelquefois, la plaque se

(1) Marinesco (G.) : « Etudes sur le mécanisme histochimique de la vieillesse et du rajeunissement » (*Verhändlungen des I. Inter. Kongr, f. Sexualforschung.*, Berlin, 1927).

forme sur un prolongement de la microglie, dont les ramifications se gonflent et prennent un aspect épineux, tandis que le corps cellulaire ne participe pas immédiatement à la formation de la plaque.

Dans d'autres cas, c'est la masse granuleuse qui les constitue et, au centre, il y a un petit noyau pycnotique et rétracté. Dans quelques-unes, en dehors du noyau central et de phagocytes, on voit un nombre plus ou moins grand de cellules de microglie et les ramifications de leurs prolongements prennent une part essentielle dans la constitution de la plaque. Les cellules microgliques de la périphérie de la plaque offrent une espèce de polarité, c'est-à-dire que les prolongements qui se dirigent vers la plaque sont altérés, tandis que ceux en dehors de la plaque sont plus ou moins intacts.

Dans la plupart des cas, le rôle que joue la cellule microglique et ses ramifications dans la genèse des plaques est indubitable, mais il y a cependant des plaques acellulaires où l'on ne constate pas de noyau central, ni de cellules de microglie à leur périphérie.

MM. Urechia et Elekes sont disposés à considérer ces plaques comme des phases plus avancées d'où les noyaux ont disparu, et il n'en reste qu'un feutrage de fibrilles microgliques. Nous ne pouvons accepter cette opinion que sous réserve.

L'existence de pareilles plaques acellulaires, de même que la présence de prolongements des cellules migrogliques sans la formation de véritables plaques, nous suggère l'idée que, dans ce cas comme dans le cas précédent, la production des plaques dites séniles n'est pas l'expression d'une altération primitive des cellules de microglie, mais leur réaction est secondaire à un processus pathologique qui se déroule dans l'interstice du parenchyme nerveux, et que les cellules microgliques exercent leur rôle phagocytaire après avoir passé par une phase d'irritation et de néoformation de prolongement. Le but de cette réaction serait de digérer les substances hypothétiques qui précipitent en vertu d'un trouble de l'équilibre colloïdal.

En ce qui concerne les relations des plaques séniles avec les vaisseaux, phénomène sur lequel d'autres auteurs ont insisté, il n'y a pas de doute qu'un pareil rapport existe, et il n'est pas exceptionnel de voir que les plaques se forment autour de la paroi vasculaire et même que le dépôt argentophile suit le trajet d'un petit vaisseau. Cependant, cette relation n'est pas obligatoire, car nous avons vu des cas où les plaques font leur apparition en plein parenchyme, indépendamment des vaisseaux.

Nous avons insisté particulièrement sur les modifications qu'éprouve la microglie dans les plaques, mais la microglie située en dehors des plaques est à son tour modifiée, les gros prolongements sont tuméfiés et irréguliers, avec beaucoup de ramifications. Parfois la réunion de plusieurs éléments forme une espèce de nid microglique.

En résumé, les plaques dites séniles paraissent être dues à la précipitation d'une matière de désintégration argentophile faisant son apparition à la suite d'un déséquilibre des phases colloïdales et exerçant sur les cellules de microglie une action chimiotaxique. La microglie subit, dans le processus de phagocytose qu'elle entreprend, une série de transformations qui ne sont pas spécifiques et un autre processus tout à fait particulier de dégénérescence ressemblant à l'amyloïde, formant le noyau de la plaque et résultant de l'altération des cellules de microglie.

Le noyau central, — comme l'a montré M. Divry, — devient biréfringent, prend une teinte métachromatique avec les couleurs d'aniline, se teint par le Lugol en gris, parfois en verdâtre, pour devenir ensuite brunâtre.

La couronne de la plaque est constituée, en grande partie, par les ramifications des cellules de microglie qui délimitent, pour ainsi dire, la périphérie du processus pathologique et dessinent le contour de la plaque. Dans une phase plus éloignée, le processus de phagocytose de la microglie est suivi de phénomènes de dégénérescence et régénérescence des fibres nerveuses, phénomène constant dans les phases tardives de l'évolution des plaques.

La névroglie ne prend pas part à la formation des plaques, mais elle subit un processus d'hypertrophie des prolongements qui enveloppent la plaque, sans pénétrer d'habitude dans la plaque elle-même.

L'analyse des phénomènes décrits plus haut tendrait à démontrer que les plaques séniles, sans appartenir en propre à la sénilité, car nous les avons rencontrées chez une femme âgée de quarante-cinq ans, représentent une lésion spécifique apparaissant à un certain moment, lorsqu'il y a des troubles du métabolisme qui président au déséquilibre colloïdal dont nous avons parlé et déterminent la série de phénomènes si caractéristiques de la formation des plaques.

Neurotisation des plaques. — La neurotisation des plaques séniles, décrite pour la première fois et très exactement par Fischer, étudiée ensuite par nous-même, par Tinel, qui lui a consacré un chapitre important, ne laisse plus de doute aujourd'hui.

Toutefois, je me vois obligé de dire quelques mots sur ce phénomène, parce qu'un histologiste très compétent, M. Rizzo, affirme n'avoir jamais vu dans les plaques des fibres dégénérées ; il n'a pas vu sans plus des massues, interprétées comme des phénomènes de dégénérescence, en utilisant toutes les méthodes ; à l'aide de la méthode de Bielschowsky, il a constaté cependant, dans un seul cas, une plaque de la corne d'Ammon où il y avait des fibres myéliniques et amyéliniques traversant et entourant la plaque.

Fischer a décrit les phénomènes réactionnels de cylindraxes et il a encore indiqué d'une façon détaillée les modifications prolifératives de neurofibrilles qui avoisinent les plaques. A son tour, Bielschowsky (1) confirme l'existence de fibres épaisses et de massues à la périphérie des plaques séniles, mais il se demande s'il s'agit là d'un processus de dégénérescence ou bien si nous avons affaire à des modifications de régénérescence ou enfin des deux à la fois. En examinant différentes phases de l'évolution de la plaque, Bielschowsky conclut que les images qu'il a constatées sont l'expression d'une dégénérescence spéciale et que la dégénérescence prédomine sur la régénérescence. Ce qui le confirme dans cette opinion, c'est que les fibres épaisses et les massues sont assez souvent fragmentées ou détruites. La régénérescence, dans les plaques, est annoncée par la division des fibres nerveuses, telle qu'elle a été décrite par Fischer, de même que la présence de fibres rétrogrades, et par l'apparition de ramifications des fibres nerveuses se terminant par des boutons et des anneaux.

Dans quelques plaques, les fibres nerveuses et névrogliques qui les traversent sont mieux imprégnées. Les cellules nerveuses et névrogliques sont assez bien conservées et, par conséquent, la dégénérescence ne peut pas avoir lieu.

Pour constater la métamorphose des fibres nerveuses situées dans la région annulaire de la plaque sénile, il faut faire appel à des méthodes qui rendent invisible la substance argentophile des plaques et mettent en évidence les fibres nerveuses. Parmi ces méthodes, celle de Ramon y Cajal à l'alcool-ammoniaque et ses modifications est de première nécessité. On peut encore traiter les pièces d'abord par le chloroforme et l'éther et ensuite pratiquer la méthode de Bielschowsky. C'est dans de pareilles conditions qu'on voit, à la surface de la plaque, un plexus de fibrilles nerveuses ayant subi une métamorphose et donnant naissance à

(1) Bielschowsky (Max). — « Für Kenntnis der Alzheimeschen Krankheit präsenslen Demenz mit Herdsymptomen » (*Journ. für Psychol. und Neurol.*, vol. 18, Ergänzungsheft, 1, 1911).

des anneaux, à des boutons ou à des massues terminales. Parfois on assiste à un véritable neurocladisme ou arborescence terminale de nouvelle formation. En ce qui concerne le calibre, le trajet et le nombre des fibres nerveuses au niveau des plaques, nous retrouvons la même variabilité que nous avons décrite dans les pièces traitées par d'autres méthodes. Sans doute que cette variabilité est en rapport avec les changements successifs qu'éprouvent les éléments constitutifs des plaques.

Il y a des plaques où on ne voit que des fibres fines entrelacées; dans d'autres, il y a des fibres épaisses hypertrophiées et hypercolorées à l'argent, et dans une troisième catégorie on constate un mélange de fibres fines et épaisses.

Parfois il y a un plexus inextricable à la surface de la plaque des pièces traitées par l'argent ammoniacal. Du reste, M. Tinel, dans son travail important sur les processus de la démence sénile, a attiré également l'attention sur les plaques séniles anciennes, qui sont surtout formées par un lacis de fibres nerveuses hypertrophiées et hypercolorées, avec de véritables figures de régénérescence. Il y a également, dans ses figures, des boules terminales et des massues de régénération.

Je suis revenu dans un travail plus récent (1) sur les phénomènes de neurotisation où j'ai montré que les fibres de néoformation résultant de la dégénérescence terminale ou collatérale ne pénètrent jamais dans le centre de la plaque, où il y a un milieu défavorable pour la nutrition. Elles se limitent à la surface et y forment une espèce de plexus ou bien pénètrent seulement jusqu'à la périphérie, ou encore finissent par des boutons, des anneaux, offrant parfois un effilochement ou même une hypertrophie (fig. 14 et 15). Cependant, il faut ajouter que la neurotisation est un phénomène tardif qui s'observe surtout dans les vieilles plaques, où l'action mécanique et peut-être toxique du métabolisme atteint le maximum.

Nous ne prétendons pas que toutes les fibres nerveuses, qui se trouvent au niveau de la plaque et qui enveloppent sa surface soient de nouvelle formation; mais, en utilisant des méthodes adéquates, on voit des épisodes histologiques, comme au cours de la régénérescence des fibres nerveuses (anneaux, boutons, etc.). Du reste, le lacis inextricable de fibres fines et épaisses à la surface des plaques contraste avec le nombre restreint des fibres qui siègent au voisinage des plaques et qui ont une ordonnance différente.

(1) Marinesco (G.) : « Sur une forme spéciale d'ataxie aiguë » (*Revue Neurologique*, octobre 1927).

LÉGENDES DES FIGURES

Fig. 1. — Plaque sénile à noyau central volumineux entouré d'une couronne de filaments ou de bâtonnets réunis en mèches fortement argentophiles. A la périphérie du noyau central, on voit quelques bâtonnets, courts, de substance argentophile qui y sont accolés. En haut et en bas, un noyau de microglie dont on ne voit pas les prolongements.

Fig. 2. — Plaque sénile à la périphérie de laquelle on voit plusieurs cellules névrogliques de type fibreux *(a)*, cellule névroglique hypertrophiée dont quelques prolongements se dirigent vers un capillaire et d'autres à la surface de la plaque *(b, c, d, e)*, cellules névrogliques dont les prolongements n'arrivent pas à la surface de la plaque *(f)*, cellule névroglique fibreuse dont les prolongements entourent la plaque.

Fig. 3. — Cellule de microglie offrant une polarité nette. Des prolongements inférieurs se détachent des ramifications, qui constituent presque à elles seules la plaque entière.

Fig. 3 *bis*. — Coupe de la frontale ascendante d'une femme âgée de quarante-cinq ans, atteinte de polynévrite sensitivo-motrice. Imprégnation par la méthode Hortega à gauche et à droite de la pièce ; on voit *(P, P')* des plaques séniles acellulaires constituées par un enchevêtrement assez dense de filaments argentophiles. Ni à la surface, ni au voisinage, on n'aperçoit pas de cellule de microglie. — *p''*, plaque à noyau central; *p'''*, petite plaque.

Fig. 4. — Au centre de la plaque, on voit un conglomérat d'éléments cellulaires dont tout au moins trois, situés à la périphérie, sont des cellules microgliques. Elles possèdent un prolongement peu ramifié qui traverse la couronne de la plaque. Au centre, on voit un corpuscule homogène sans structure apparente, réniforme, représentant le noyau de la plaque, c'est-à-dire la partie qui subit la dégénérescence amyloïde.

Fig. 5. — Au centre de la plaque, on aperçoit plusieurs noyaux hypercolorés confondus dans une masse contenant des lipoïdes. Il s'agit de cellules de microglie ayant subi un processus dégénératif et elles ne possèdent plus de prolongements.

Fig. 6. — Même cas que les figures précédentes. Plaque sénile constituée par une zone périphérique à cellules microgliques à différentes phases de transformation en phagocytes. Les prolongements qui se trouvent dans la couronne sont épaissis et peu ramifiés. Dans le protoplasma microglique, il y a des lipoïdes et le noyau est excentrique. Au centre de la plaque, on voit un corpuscule central possédant des noyaux argentophiles confondus dans une masse à contour festonné et à structure d'apparence fibrillaire.

Fig. 7. — Même cas. Petite plaque sénile ayant à sa partie supérieure deux cellules microgliques transformées en phagocytes et au-dessous d'autres cellules de microglie sans ramifications fines présentant sur leurs prolongements des renflements contenant des lipoïdes. Autour de la plaque, on voit des cellules nerveuses contenant des lipoïdes dans leur protoplasma.

Fig. 8. — Au milieu de la plaque, il y a une cellule de microglie à noyaux pycnotiques. Les prolongements de la microglie traversent la plaque pour finir dans le tissu environnant. Les cellules nerveuses qui se trouvent autour de la plaque sont chargées de lipoïdes.

Fig. 9. — Phénomène de la croix de polarisation dans le corpuscule central d'une plaque sénile, à la lumière polarisée. (Microph. obj. Zeiss 6.)

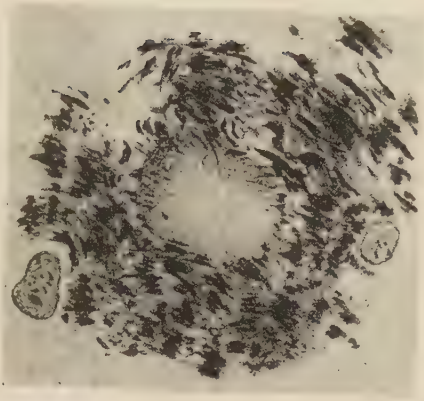


FIG. 1.

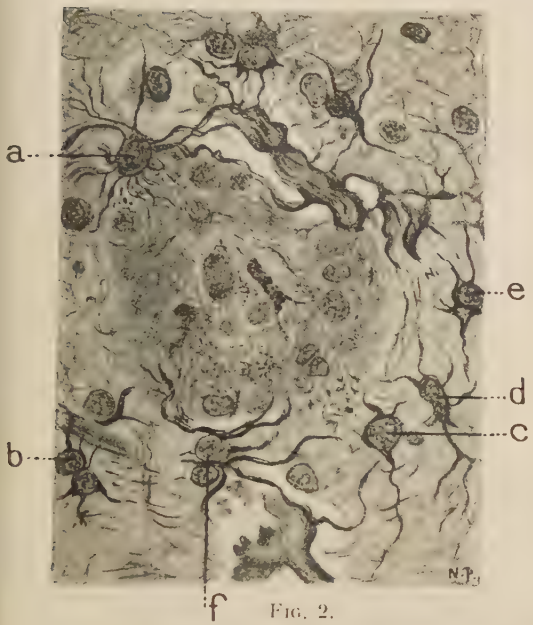


FIG. 2.

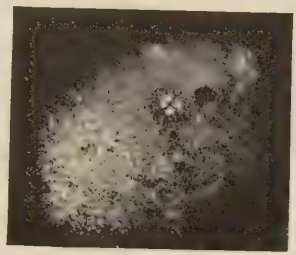


FIG. 9.

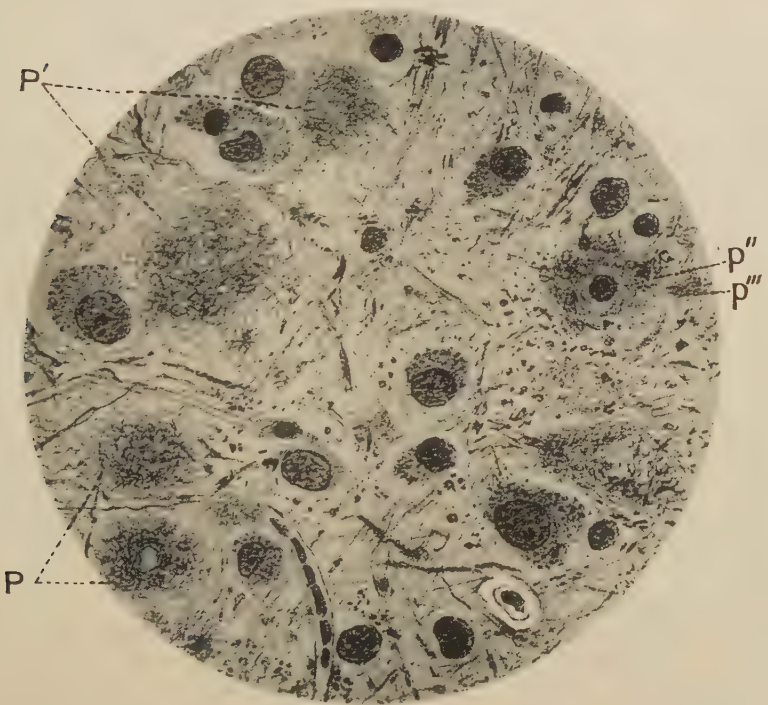
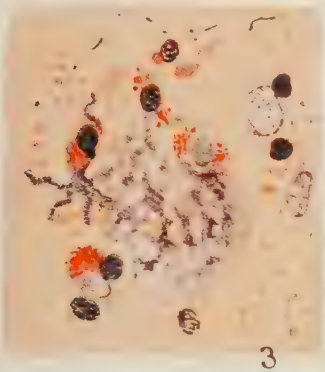
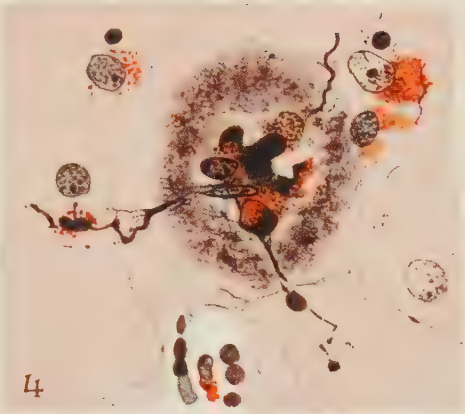


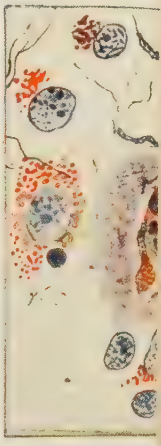
FIG. 3 *bis*.

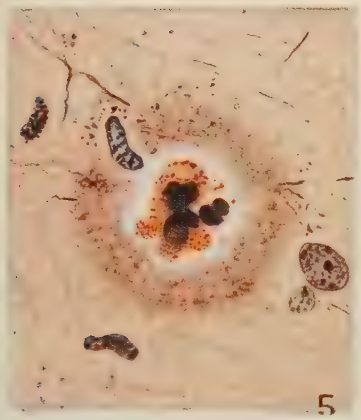


3

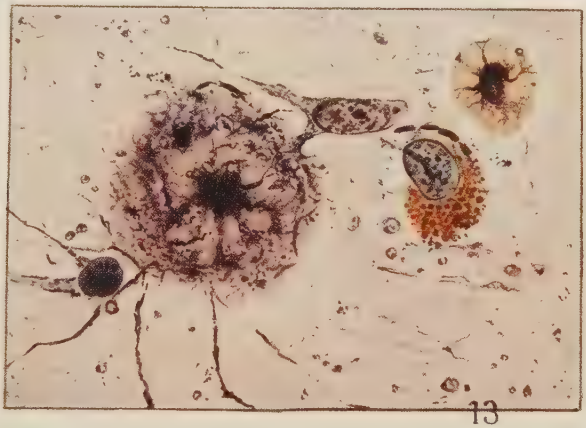


4

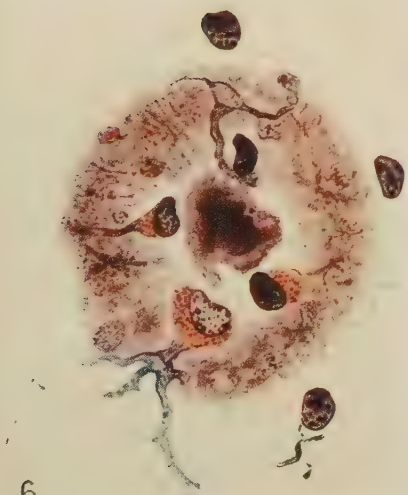




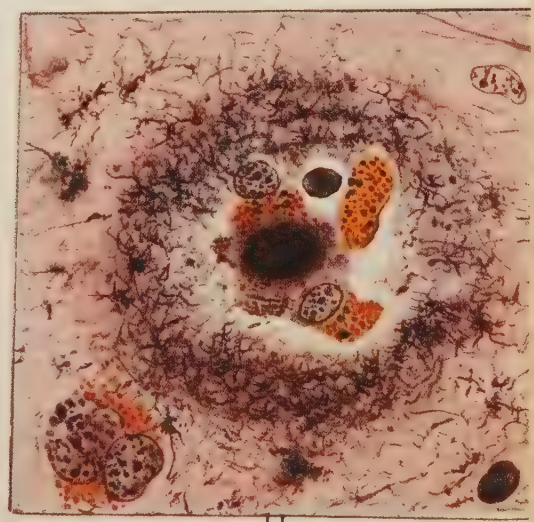
5



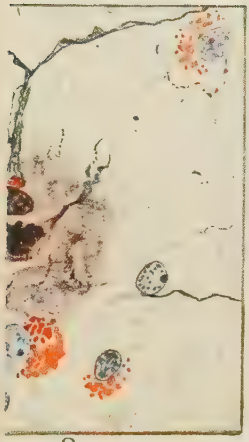
13



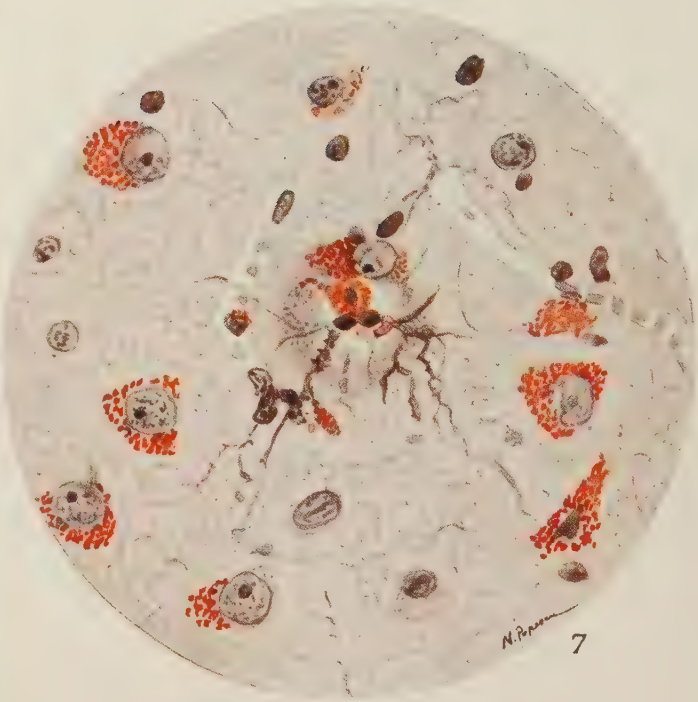
6



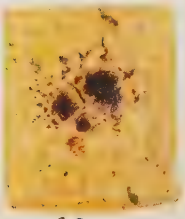
11



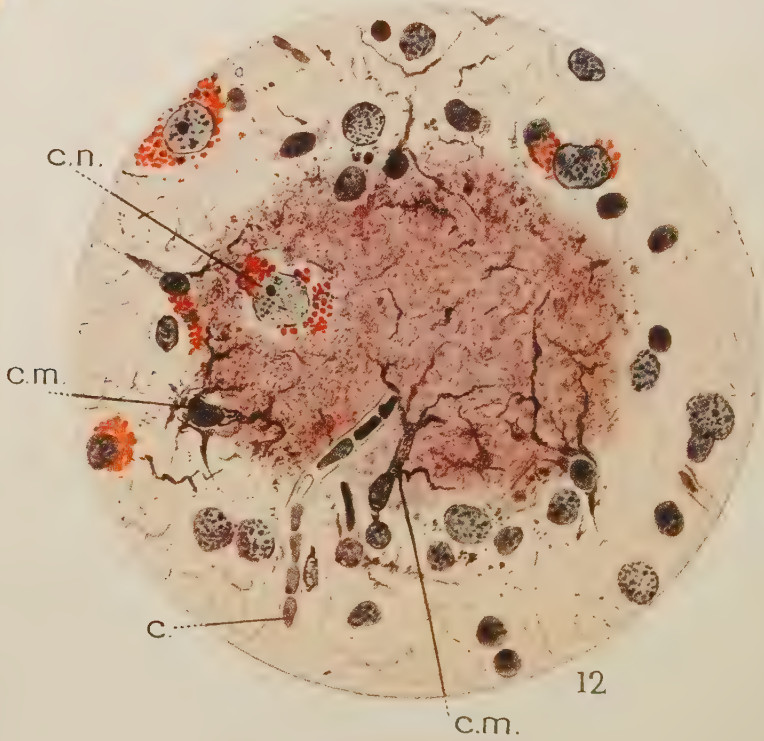
8



7



10



12

Fig. 10. — Plaque sénile colorée en gris bleuâtre par le Lugol. Le noyau central offre à sa périphérie des filaments rayonnants et des granules qui prennent le Lugol, résultant de la dégénérescence des prolongements de la microglie.

Fig. 11. — Plaque sénile (frontale ascendante) chez une femme âgée de quarante-cinq ans, atteinte de polynévrite, constituée par une zone annulaire périphérique argentophile où l'on n'aperçoit pas des cellules de microglie et un noyau central très fortement argentophile, entouré d'une zone plus claire, à la surface de laquelle on voit des phagocytes surchargées de lipoïdes et de granulations argentophiles. Entre le noyau central et la zone périphérique, il y a un espace clair dû probablement à la digestion des éléments qui se trouvent là ; pas de phagocytes.

Fig. 12. — Grosse plaque sénile granulaire qui englobe en partie un capillaire *(c)*. A son intérieur, on aperçoit une cellule nerveuse *(c, n)* ; à sa périphérie, des cellules de microglie *(c, m)* dont les ramifications se perdent dans le tissu de la plaque.

Fig. 13. — Plaque sénile moyenne à la périphérie de laquelle il y a plusieurs cellules de microglie qui envoient des prolongements à l'intérieur de la plaque. Au centre de la plaque, il y a une cellule microglique en voie de dégénérescence hyaline, dont les ramifications finissent dans la couronne périphérique.

ROSSICOTREMA DONICUM SKRJABIN ET LINDTROP ET SA MÉTACERCAIRE

par

I. CIUREA

(Travail du laboratoire de parasitologie de la Faculté de médecine vétérinaire de Bucarest.)

Le ver adulte

Historique. — Ce hétérophyidé a été trouvé pour la première fois (1918) par Skrjabin et Lindtrop, en Russie, dans l'intestin des chiens et des chats de la ville de Novotscherkassk. Je l'ai trouvé en Roumanie, dans l'infestation naturelle chez un chien sacrifié le 7 juin 1913 à la station des pêcheries Somova du département Toulcea. Je l'ai retrouvé depuis chez des chiens nourris expérimentalement, en 1913-1915, avec les espèces suivantes de poissons : le rotengle [*Scardinius erythrophthalmus (L.)*], la brême [*Abramis brama (L.)*], et la brême bordelière [*Blicca björkna (L.)*].

Description. — Mes exemplaires de *Rossicotrema donicum* mesurent 0,66-1,14 mm. en longueur et 0,33-0,46 mm. en largeur. Les exemplaires un peu contractés ont le contour piriforme; ceux bien allongés ont plus ou moins la forme d'un biscuit. La cuticule est pourvue de petites écailles qui ont le bord postérieur arrondi; elles sont très nombreuses jusqu'au niveau de la ventouse abdominale, puis de plus en plus rares.

La ventouse buccale est sous-terminale, sphérique, 0,051-0,059 mm. de diamètre. La ventouse abdominale un peu plus petite (0,044-0,055 mm. de diamètre) est placée à l'intérieur d'un sinus génital. Chez les exemplaires un peu contractés, le sinus se trouve au-dessous, et chez ceux plus allongés au-dessus du milieu du corps. Immédiatement au-dessus de la ventouse abdominale se détachent deux papilles musculeuses, de la paroi dorsale du sinus; elle sont situées à une faible distance (0,0022 mm. environ) l'une de l'autre; ces papilles représentent d'après mes recherches antérieures les vestiges de la ventouse génitale des autres hétéro-

phyidés. Leur forme est plus ou moins hémisphérique, mesurant environ 0,033 mm. de long et 0,020 mm. de large ; entre elles viennent s'ouvrir séparément le canal éjaculateur et l'utérus. Le sinus génital communique à l'extérieur par un petit pore génital, situé au niveau de l'extrémité antérieure de la ventouse abdominale.

En ce qui concerne le tube digestif, on voit qu'à la ventouse buccale suit un prépharynx, 0,013 mm. de long (chez les exemplaires bien allongés), qui se continue par un pharynx mesurant 0,041-0,051 mm. en longueur et 0,030-0,040 mm. en largeur. L'œsophage est relativement long, 0,088 mm.; au-dessus du sinus génital, il se bifurque en deux branches intestinales, qui descendent sur les côtés latéraux du corps jusqu'à l'extrémité postérieure, où ses culs-de-sac (chez les exemplaires un peu contractés) viennent presque en contact avec les parois de la vésicule excrétrice.

Les testicules ont un contour à peu près triangulaire; ils sont situés au voisinage de l'extrémité postérieure, dans une position d'autant plus oblique que les exemplaires de *Rossicotrema donicum* sont plus allongés. Le testicule antérieur, un peu plus petit, se trouve du côté gauche et le postérieur du côté droit, le premier mesure 0,088-0,165 mm. en longueur et 0,097-0,130 mm. en largeur et le dernier 0,088-0,170 mm. en longueur et 0,101-0,143 mm. en largeur. La vésicule séminale, allongée, s'entortille entre l'ovaire et le sinus génital ; elle se continue par un canal éjaculateur qui monte du côté gauche pour s'ouvrir dans le sinus.

L'ovaire est situé au-dessus du testicule postérieur ; sa forme varie selon l'état de contraction du corps du parasite ; chez les exemplaires plus allongés, il est sphérique ; chez ceux plus contractés, il est ellipsoïdal dans le sens transversal, mesurant 0,042-0,077 mm. en longueur et 0,070-0,099 mm. en largeur. Au-dessous de l'ovaire et un peu dorsalement se trouve le réceptacle séminal, de forme plus ou moins ovalaire ; il mesure 0,040-0,088 mm. de long et 0,051-0,095 mm. de large. L'utérus décrit quelques circonvolutions dans l'espace resté libre entre l'ovaire, le testicule antérieur et les deux branches intestinales; sa portion terminale, un peu plus musculeuse, longe du côté gauche le canal éjaculateur.

Les glandes vitellogènes sont représentées par de nombreux follicules sphériques ou plus ou moins ovoïdes, placés au voisinage des bords latéraux du corps, en commençant au niveau du bord antérieur du sinus génital ou un peu plus haut et jusqu'au-

dessous des testicules. On trouve des follicules aussi dans le champ central du corps. Au niveau du bord postérieur de l'ovaire, chaque glande vitellogène donne naissance à un vitelloduct qui traverse perpendiculairement l'axe longitudinal du corps jusqu'à son débouchement dans le vitellosac. Celui-ci est situé du côté gauche de l'ovaire, au niveau de son bord postérieur.

Les œufs sont peu nombreux, ils mesurent 0,035-0,040 mm. en longueur et 0,019-0,024 mm. en largeur.

La vésicule excrétrice a la forme d'un *Y*, dont la branche postérieure prend la forme d'un *S* entre les testicules. Ses deux branches latérales antérieures montent jusqu'au niveau du bord postérieur de l'ovaire. Les deux canaux excréteurs latéraux commencent au niveau de la ventouse buccale, ils descendent sur les côtés du corps jusqu'au niveau de l'ovaire ; ici, ils croisent en dedans les branches intestinales pour déboucher dans les branches latérales de la vésicule excrétrice.

Habitat. — Skrjabin et Lindtrop ont trouvé *Rossicotrema donicum* dans la moitié postérieure de l'intestin grêle du chien et du chat. J'ai récolté le plus grand nombre d'exemplaires de ce trématode dans le tiers postérieur de l'intestin grêle, peu d'exemplaires dans le tiers moyen et pas du tout dans le tiers antérieur. Parmi les mammifères domestiques, je l'ai trouvé seulement chez le chien.

Fréquence. — J'ai trouvé ce trématode une seule fois dans un cas d'infestation naturelle et plusieurs fois dans des infestations expérimentales. Le plus grand nombre d'exemplaires que j'ai pu récolter chez un seul animal fut de 57.

Distribution géographique. — Jusqu'à présent, *Rossicotrema donicum* a été trouvé en Russie dans la région du Don, et en Roumanie dans la région danubienne (Somova, départ. Toulcea).

La métacercaire

Historique. — Il y a trois ans, ma femme, Cécile Ciurea, en cherchant les larves d'*Eustrongylides* chez des perches *(Perca fluviatilis L.)* provenant des étangs du Danube, a observé dans leurs nageoires un piquetage noir ressemblant à celui que l'on trouve autour des kystes de la métacercaire d'*Apophallus Mühlingi.*

Je fus très surpris de trouver cette métacercaire chez *Perca fluviatilis*, parce que jusque-là je ne l'avais trouvée que dans les nageoires et la musculature des poissons *Cyprinoïdes*.

En une autre occasion, ma femme attira mon attention sur ce que, chez *Perca fluviatilis*, on trouve les métacercaires d'*Apophalus Mühlingi* également dans l'épaisseur de la peau, ce que je n'avais pas observé chez les *Cyprinoïdes*. Ce fait me détermina à chercher ces métacercaires dans la musculature du *Perca fluviatilis*, mais je n'ai pas pu les trouver. Ensuite j'ai procédé à l'extraction d'une métacercaire de la peau. J'ai trouvé une larve dont la taille et l'organisation ressemblaient assez bien à celle d'*Apophalus Mühlingi*, avec la différence qu'elle possédait les ébauches des testicules et de l'ovaire beaucoup plus grandes. On pouvait les voir, sous la forme de sphères réfringentes, même chez les métacercaires vivantes. Il ne me resta aucun doute qu'il s'agissait d'une métacercaire appartenant à un autre trématode, probablement aussi un hétérophyidé bien rapproché d'*Apophalus Mühlingi*, j'ai supposé *Rossicotrema donicum* Skrjabin et Lindtrop.

Plus tard, j'ai trouvé cette métacercaire aussi chez *Lucioperca sandra L.* et *Lucioperca volgensis (Pall.)*

Pour déterminer à quelle espèce de trématode appartenait cette métacercaire, j'ai nourri, le 7 octobre 1927, un petit chien avec des nageoires et de la peau de *Perca fluviatilis* infestées avec la métacercaire en question. En sacrifiant ce chien sept jours après, j'ai pu recueillir de son intestin grêle cinquante-sept exemplaires ovigères de *Rossicotrema donicum*.

Description. — Chez les poissons infestés avec cette métacercaire, on observe dans les nageoires et dans la peau des petits points noirs. A l'examen microscopique, on peut voir des petits kystes, elliptiques, mesurant 0,26-0,34 mm. en longueur et 0,20-0,23 mm. en largeur, dont la face externe est plus ou moins entourée d'une couche de pigment noir. Chez les métacercaires plus âgées, on observe une couche de pigment qui entoure complètement les kystes, en leur formant une véritable capsule, tandis que chez les plus jeunes on observe seulement des petites agglomérations de pigment, situées aux pôles ou sur les côtés des kystes. Ces kystes, entourés de pigment, mesurent 0,30-0,74 mm. en longueur et 0,20-0,39 mm. en largeur. On trouve aussi des kystes complètement dépourvus de pigment, plus petits, mesurant en moyenne 0,22 mm. de long et 0,17 mm. de large, qui contiennent des métacercaires très jeunes.

La paroi du kyste se compose de deux membranes : l'une externe, fibreuse, très résistante, plus épaisse, 0,03-0,06 mm., l'autre interne, hyaline, plus fine et bien transparente, 0,002-0,004 mm. d'épaisseur.

A travers la paroi du kyste, on peut observer la métacercaire qui, repliée sur sa face ventrale, occupe presque complètement la cavité kystique. Chez les métacercaires débarrassées de la membrane externe, c'est-à-dire chez celles qui restent enveloppées seulement par la membrane interne du kyste, on peut distinguer aussi les écailles cuticulaires, les deux ventouses et souvent les ébauches des testicules.

La métacercaire, dégagée de son kyste, dans une goutte d'eau, possède une mobilité très faible; elle a la forme d'une bandelette avec un contour ovale allongé, mesurant 0,49-0,53 mm. en longueur et 0,13-0,15 mm. en largeur. Dans cet état, on se rend compte que les écailles cuticulaires, dont le bord postérieur est arrondi, sont très nombreuses jusqu'au niveau de la ventouse abdominale et deviennent de plus en plus rares à mesure qu'elles se rapprochent de l'extrémité postérieure du corps.

La ventouse buccale sphérique occupe le pôle le plus étroit du corps ; elle est suivie par un pharynx à peu près globuleux, qui se continue par un œsophage s'étendant jusqu'au voisinage du milieu du corps; ici, il se bifurque en deux branches intestinales qui descendent sur les côtés latéraux jusqu'à une petite distance de l'extrémité postérieure. Peu au-dessous de la bifurcation de l'œsophage siège le sinus génital, qui contient la ventouse abdominale, un peu plus petite que la buccale. Parmi les ébauches des glandes génitales, on observe mieux celles des testicules, situées sur les côtés latéraux de la vésicule excrétrice. Celle-ci a plus ou moins la forme d'un ovale qui occupe la partie centrale de la portion postérieure du corps, mesurant environ 0,037 mm. de long et 0,015 mm. de large. A l'intérieur de la vésicule excrétrice, on observe de nombreuses sphérules calcaires avec un diamètre de 0,002 mm. environ, d'une coloration plus sombre, brune grisâtre.

Les métacercaires, conservées dans de l'alcool, mesurent 0,27-0,38 mm. en longueur (dont 0,17-0,25 mm. pour la portion du corps située au-dessus, 0,10-0,17 mm. pour la portion située au-dessous de la ventouse abdominale) et 0,14-0,17 mm. en largeur.

La ventouse buccale a un diamètre de 0,035-0,045 mm.; le prépharynx mesure environ 0,018 mm. en longueur ; le pharynx

a 0,031-0,033 mm. de long et 0,029-0,033 mm. de large ; l'œsophage mesure 0,055-0,10 mm. en longueur. Les ébauches des testicules ont un contour circulaire, 0,041-0,046 mm. de diamètre ; elles ont une position un peu oblique à côté de la vésicule excrétrice ; l'ébauche du testicule antérieur est placée à gauche et celle du testicule postérieur à droite. L'ébauche de l'ovaire se trouve au-dessus du testicule postérieur, son contour est aussi circulaire : 0,022-0,037 mm. de diamètre. L'ébauche de l'utérus se présente comme un petit cordon cellulaire ayant plus ou moins la forme d'un *S*.

La vésicule excrétrice a la forme d'un *Y*, dont la branche impaire entre les deux testicules prend la forme d'un *S*.

Hotes intermédiaires. — Des recherches expérimentales que j'ai faites pendant les années 1913-1915 il résulte que *Scardinius erythrophthalmus*, *Abramis brama* et *Blicca björkna* doivent être considérés comme des hôtes secondaires de la métacercaire de *Rossicotrema donicum*, car, dans l'intestin des chiens nourris avec ces poissons, j'ai trouvé un très petit nombre de parasites adultes. De mes recherches actuelles il résulte que les hôtes de prédilection de cette métacercaire sont : *Perca fluviatilis*, *Lucioperca sandra* et *Lucioperca volgensis*.

Habitat de la métacercaire dans le corps des poissons. — Dans les infestations légères, on trouve les métacercaires seulement dans les nageoires et dans la peau, à l'exception de celle recouvrant la tête; tandis que, dans les infestations massives, on les trouve également sur la peau de la tête. Parmi les nageoires, c'est la caudale et les pectorales qui sont les plus infestées. Ainsi, chez une *Perca fluviatilis* massivement infestée, j'ai pu compter soixante-quinze métacercaires dans la nageoire caudale et cinquante-six dans une nageoire pectorale. Dans les nageoires, les métacercaires siègent le plus souvent à l'intérieur des radies et rarement dans les membranes interradiaires. Dans la peau, les métacercaires siègent le plus souvent dans les couches profondes; seulement, dans les infestations massives, on les trouve aussi dans les couches superficielles.

Etangs dans lesquels les perches et les sandres ont été trouvés infestées avec la métacercaire de « rossicotrema donicum » et la fréquence de l'infestation. — Les perches et les sandres que j'ai trouvées infestées avec cette métacercaire

provenaient de l'étang Greaca (département d'Ilfov) et des étangs de Vâlcov (département d'Ismaïl). J'ai trouvé les poissons (*Perca fluviatilis* et *Lucioperca*) de ces étangs assez souvent infestés avec la métacercaire de *Rossicotrema donicum*.

Evolution de la métacercaire de « rossicotrema donicum » jusqu'a l'état adulte. — Pour suivre l'évolution de cette métacercaire, j'ai nourri (un seul repas), pendant les mois de juin et de juillet 1928, une souris et des jeunes chiens de la même nichée avec des nageoires et de la peau des *Perca fluviatilis* infestées avec cette métacercaire et j'ai sacrifié ces animaux douze heures, vingt-quatre heures, deux jours et demi, trois jours et dix-sept heures, sept jours et quatorze jours après, pour chercher les distomes qui se seraient développés dans leur intestin.

J'ai recueilli les parasites de l'intestin de chaque animal de la manière suivante : j'ai divisé l'intestin grêle en trois portions, antérieur, moyen et postérieur ; j'ai raclé avec une spatule le contenu intestinal de chaque portion et je l'ai mis séparément dans des tubes à essais de grandes dimensions, remplis à moitié d'alcool à 70° ; j'ai agité fortement le mélange pendant la fixation pour débarrasser les distomes des mucosités adhérentes. Après une demi-heure, j'ai lavé ce matériel avec de l'eau ordinaire jusqu'à ce qu'il soit devenu assez transparent pour pouvoir distinguer les trématodes à l'examen microscopique.

« Rossicotrema donicum » douze heures après l'infestation. — Je possède cinq exemplaires, dont la taille est à peine plus grande (0,40 mm. de long et 0,18 mm. de large environ) que celle de la métacercaire. Dans ce stade de son évolution, le parasite présente en plus: l'ébauche du réceptacle séminal sous la forme d'une petite vésicule (0,15 mm. de diamètre) située au-dessous de l'ovaire, au voisinage de la branche droite de l'intestin; les ébauches des glandes vitellogènes, qui sont représentées par des cellules glandulaires plus ou moins groupées en de très petits follicules, placés sur les côtés latéraux du corps en commençant au niveau du sinus génital jusqu'à l'extrémité postérieure.

Vingt-quatre heures après l'infestation. — Dans ce stade d'évolution, je possède un seul exemplaire, un peu contracté, provenant de l'intestin de la souris, mesurant 0,37 mm. en longueur et 0,16 mm. en largeur. Cet exemplaire diffère de ceux du stade précédent par ce qu'il a les follicules des glandes vitellogènes un peu plus développés.

Deux jours et demi après l'infestation. — Dans cet intervalle, la taille de *Rossicotrema donicum* est devenue plus grande, le parasite mesure en moyenne 0,56 mm. en longueur et 0.23 mm. en largeur. Son évolution est à peu près terminée, car les vingt-quatre exemplaires que je possède sont déjà ovigères ; j'ai pu compter jusqu'à neuf à treize œufs dans l'utérus.

Trois jours et dix-sept heures après l'infestation. — Dans ce stade d'évolution, la taille des huit exemplaires que j'ai pu récolter est presque la même que celle des exemplaires du stade précédent. Ils contiennent le même nombre d'œufs.

Sept jours après l'infestation. — Dans ce stade d'évolution, j'ai pu recueillir cinquante-sept exemplaires de *Rossicotrema donicum*. Leur taille est un peu plus grande que celle constatée chez des exemplaires des stades précédents, mesurant en moyenne 0,66 mm. en longueur et 0,46 mm. en largeur. Les organes internes sont plus développés et ils contiennent un plus grand nombre d'œufs; j'ai pu en compter jusqu'à trente. On peut donc conclure que *Rossicotrema donicum* devient adulte sept jours après l'infestation.

Quatorze jours après l'infestation. — Je possède trente exemplaires de *Rossicotrema donicum* dont la taille est un peu plus grande que celle des exemplaires du stade précédent. Ils mesurent en moyenne 0,75 mm. en longueur et 0,35 mm. en largeur. Un seul exemplaire, bien allongé, mesure 1,14 mm. en longueur et 0,32 mm. en largeur.

En comparant l'évolution de *Rossicotrema donicum* avec l'évolution des autres hétérophyidés, nous voyons qu'il parvient plus vite au stade ovigère. Ainsi *Metagonimus Yokogawai*, d'après Yokogawa, et *Metagonimus romanicus* et *Apophalus Mühlingi*, d'après mes recherches, deviennent ovigères le quatrième jour après l'infestation; *Heterophyes nocens*, d'après Cort et Yokogawa, devient ovigère du quatrième au sixième jour, et enfin *Monorchotrema Taihokui* et *Monorchotrema Taihui*, d'après les recherches de Faust et Nishigori, deviennent ovigères le premier, le troisième, et le dernier le quatrième jour après l'infestation, tandis que *Rossicotrema donicum* parvient au stade ovigère après deux jours et demi.

Cette courte période d'évolution de *Rossicotrema donicum* jusqu'au stade ovigère concorde avec le fait que sa métacercaire

possède les ébauches des glandes génitales plus développées que celles des métacercaires déjà connues des autres hétérophyidés.

En me basant sur cette courte période d'évolution de *Rossicotrema donicum* jusqu'au stade ovigère, et sur le fait que je n'ai jamais trouvé dans des coupes de la paroi intestinale du chien de jeunes exemplaires (douze heures) de ce trématode, mais seulement dans la lumière de l'intestin, je crois que probablement la métacercaire de *Rossicotrema donicum* ne pénètre pas dans la muqueuse intestinale pour accomplir une partie de son évolution (jusqu'au stade ovigère), comme il arrive pour les métacercaires de *Metagonimus Yokogawai, Metagonimus romanicus* et *Apophalus Mühlingi*, d'après Yokogawa et Ciurea.

Le fait que la métacercaire de *Rossicotrema donicum* ne pénètre pas dans la muqueuse de l'intestin peut avoir une grande importance au point de vue pathologique, car, dans les infestations massives, elle ne produirait pas des troubles intestinaux si graves que ceux produits par les trématodes qui accomplissent une partie de leur évolution dans l'épaisseur même de la muqueuse, comme il a été noté par Yokogawa dans les infestations massives avec *Metagonimus Yokogawai* chez l'homme, dans l'île de Formose.

BIBLIOGRAPHIE

Ciurea (I.) (1924) — « Hétérophyidés de la faune de Roumanie » (*Parasitology*, XVI, pp. 1-21, pl. I-V, fig. 1-19).

Cort (W.-W.) et Yokogawa (S.) (1921). — « A new trematode from Japan » (*Journ. Parasitol.*, VIII, pp. 66-69, pl. VIII, fig. 1-5).

Faust (E.-C.) and Nishigori (M.) (1926). — « The life cycles of two new species of Heterophyidæ, parasitic in mammals and birds » (*Journ. Parasitol.*, XIII, pp. 91-128, pl. III-VI, fig. 1-28).

Skrjabin (K.-J.) et Lindtrop (1919). — « Trématodes intestinales des chiens du Don » (texte en russe avec un résumé en français) (*Novotscherkask*, pp. 1-11, pl. I, fig. 1-3).

Yokogawa (S.) (1913). — « Ueber einen neuen Parasiten, *Metagonimus Yokogaway*, des die Forellenart *Plecoglossus altivelis (Temmink) zum Zwi*schenwirt hat. Bildung einer neuen Gatung » *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. I, Orig., pp. 158-170, pl. 1-5, fig. 1-17).

EXPLICATION DES PLANCHES I-III

Les figures 1, 2 et 3 ont été exécutées d'après nature, les autres ont été dessinées avec la chambre claire. Les figures 1, 2 et 3 ont été faites d'après un matériel frais, les autres d'après un matériel conservé dans l'alcool à 70°.

ABRÉVIATIONS USITÉES

Bi., branche intestinale ; *Cel.*, canal excréteur longitudinal latéral ; *Eo.*, ébauche de l'ovaire; *Etit2*, ébauches des testicules; *Eu.*, ébauche de l'utérus ; *Fv.*, follicules vitellogènes ; *Ir.*, membrane interradiaire ; *MRd.*, métacercaire de *Rossicotrema donicum* enkystée avec pigment noir autour du kyste ; *O.*, ovaire ; *Of.*, œufs ; *P.*, pore génital ; *Ph.*, pharynx ; *Pg.*, papilles génitales; *R.*, radies; *Rs.*, réceptacle séminal; *TiT2*, testicules; *Va*, ventouse abdominale ; *Vb.*, ventouse buccale ; *Ve.*, vésicule excrétrice ; *Vs.*, vésicule séminale.

PLANCHE I

Fig. 1. — Perche *(Perca fluviatilis L.)* dont la peau et les nageoires sont infestées par des métacercaires enkystées de *Rossicotrema donicum*. Grandeur naturelle.

Fig. 2. — Face interne d'un lambeau de la peau d'une perche infestée par des métacercaires de *Rossicotrema donicum*. Grandeur naturelle.

PLANCHE II

Fig. 3. — Portion de la nageoire caudale de la perche *(Perca fluviatilis L.)* infestée par des métacercaires de *Rossicotrema donicum* (Skrjabin et Lindtrop). × 28.

PLANCHE III

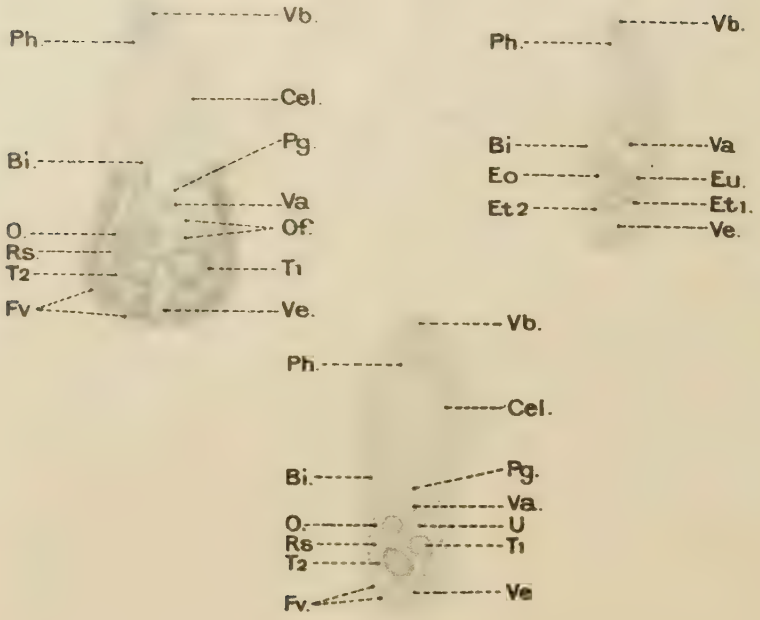
Fig. 4. — Métacercaire de *Rossicotrema donicum* (Skrjabin et Lindtrop) extraite de son kyste, vue par la face ventrale. × 79.

Fig. 5. — *Rossicotrema donicum* âgé de douze heures. × 79.

Fig. 6. — *Rossicotrema donicum* âgé de deux jours et demi, vu par la face ventrale. × 79.

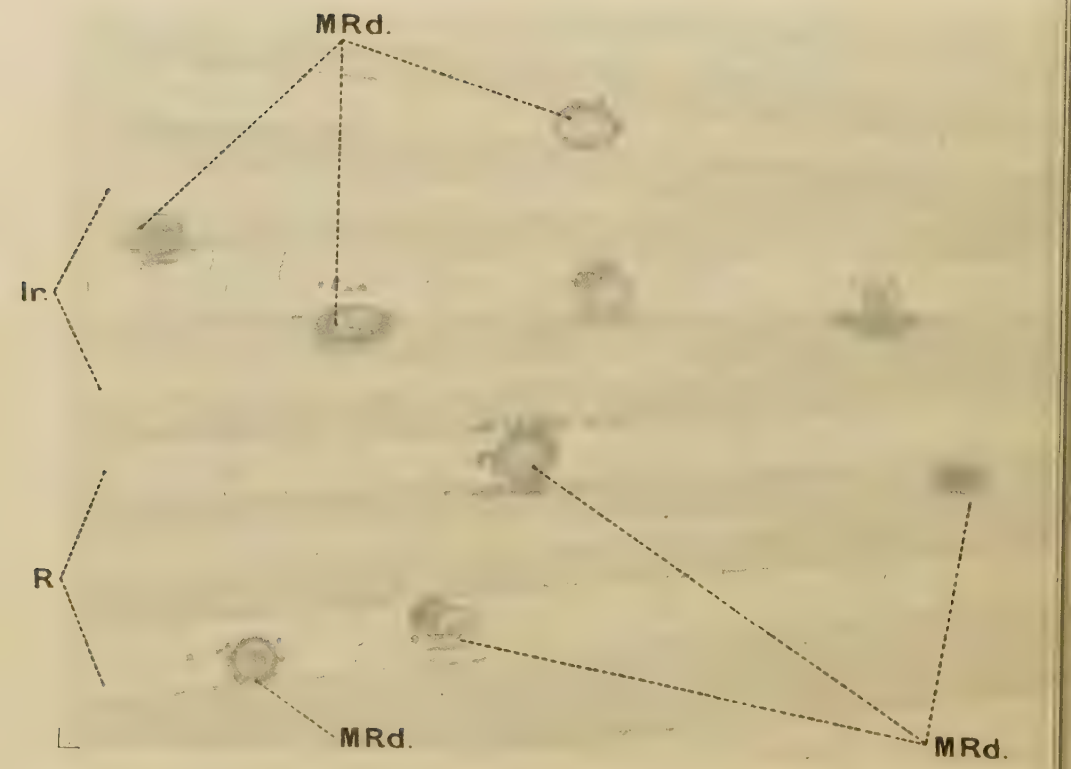
Fig. 7. — *Rossicotrema donicum* âgé de sept jours, vu par la face ventrale. × 79.

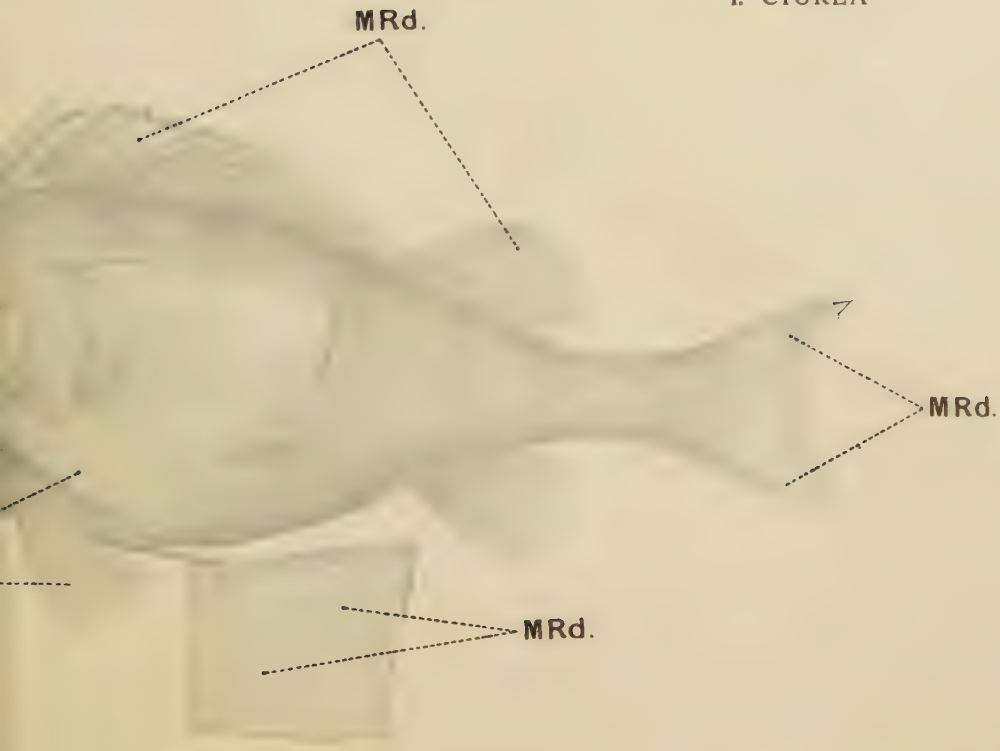
Fig. 8. — *Rossicotrema donicum* âgé de quatorze jours, vu par la face ventrale. × 79.

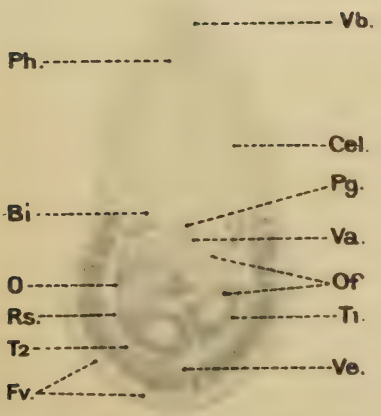

Vb.
Ph.
Cel.
Pg.
Bi.
Va
O.
Of.
Rs.
T2
T1
Fv
Ve.
Vb.
Ph.
Bi
Va
Eo
Eu.
Et2
Et1.
Ve.

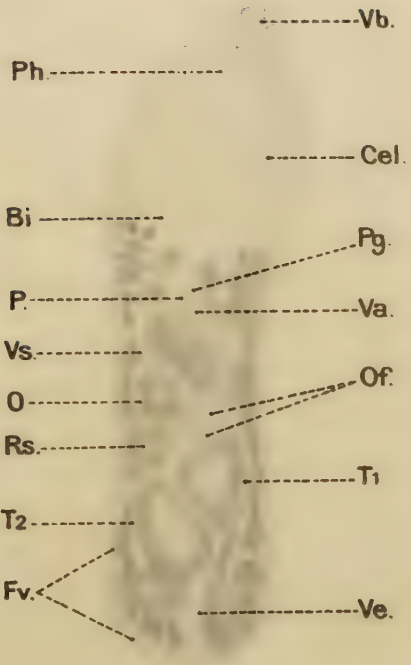
Vb.
Ph.
Cel.
Bi.
Pg.
Va.
O.
U
Rs
T1
T2
Fv.
Ve

MRd.


MRd.
Ir.
R
MRd.
MRd.


MRd.
MRd.
MRd.


Vb.
Ph.
Cel.
Pg.
Bi
Va.
Of.
O
Rs.
T1.
T2
Ve.
Fv.


Vb.
Ph.
Cel.
Bi
Pg.
P.
Va.
Vs.
Of.
O
Rs.
T1
T2
Fv.
Ve.

RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ DANS LA TUBERCULOSE

par

M. NASTA

(Travail du laboratoire de médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie de Bucarest.)

L'étude du mécanisme de l'immunité dans la tuberculose est rendue particulièrement difficile par la coexistence presque constante et la relation si intime entre l'état d'immunité et les phénomènes allergiques d'hypersensibilité.

La manifestation simultanée de ces deux ordres de phénomènes, surtout lorsqu'il s'agit d'immunité acquise et particulièrement de celle réalisée expérimentalement, est si fréquente que, par un bon nombre d'auteurs, elle est considérée comme la règle, et l'état d'immunité d'un animal appréciée selon l'intensité des phénomènes allergiques. Il en a été d'autant plus ainsi que ces derniers, de production immédiate, sont d'une appréciation aisée et bien plus nette que l'immunité proprement dite, qu'en fin de compte on ne peut juger qu'à l'issue finale du procès.

Il est indiscutable que ces deux ordres de phénomènes sont dus à une même cause, la présence du bacille de Koch dans l'organisme. Le problème qui se pose, c'est de savoir si, dans la production de l'un ou de l'autre de ces états, il entre en jeu des processus physiologiques différents, ou bien si ce sont les mêmes, se manifestant seulement avec un degré différent d'intensité. En d'autres termes, en serait-il des phénomènes d'hypersensibilité de la tuberculose comme de l'anaphylaxie à laquelle ils ont été comparés, et que Bordet (1) considère comme étant « non le contraire de l'immunité, mais un de ses aspects » et plus loin « l'expression de propriétés qui, en principe, sont salutaires et ont la signification d'une défense, mais qui sont susceptibles de s'exercer avec une vivacité dangereuse et donnent lieu à de scabreux effets ».

Mais ce qui, surtout, nous semble de première importance, c'est de savoir si, entre ces deux phénomènes, le parallélisme et l'union sont si étroites que le degré de l'un soit conditionné de l'intensité de l'autre, cas auquel il faudrait d'avance renoncer à l'idée d'une

immunité acquise dans la tuberculose, les phénomènes allergiques, en leur pleine et complète expression, représentant par le danger qu'ils feraient courir à l'organisme une trop chère rançon.

*
**

Il y a un certain nombre de processus physiologiques dont la signification ne fait pas de doute et que nous pouvons considérer sans hésitation comme des mécanismes d'immunité, car ils traduisent tous la résistance de l'organisme et aboutissent à ce qui, en dernier lieu, est la vraie expression de l'immunité : l'absence de maladie. Ce sont, en premier lieu, ceux que nous trouvons si nous nous adressons, à l'exemple de Calmette (2), aux quelques exemples d'immunité naturelle connus. Il en est ainsi de la fixation et l'isolement du bacille (exemple de la gerbille), ou bien l'insensibilité, la tolérance des cellules de l'organisme vis-à-vis des bacilles qui y pullulent librement comme un saprophyte, en ne déterminant que très peu ou pas du tout de lésions cellulaires, ni de réactions locales ou générales de l'organisme (tuberculose du rat et de la souris, bacilles avirulents des animaux à sang froid, infection des espèces réfractaires pour bacilles d'une autre origine, bacilles atténués, B. C. G.).

Certains de ces phénomènes se retrouvent dans l'immunité acquise : ainsi la fixation sur place des bacilles, dont la dissémination dans l'organisme est de beaucoup ralentie chez l'animal immunisé, selon A. Krause (3), qui voit dans ce facteur un des principaux éléments de la résistance à la réinfection. Pour d'autres auteurs, comme Calmette, se serait surtout la faculté des cellules de l'organisme de vivre en symbiose avec le bacille qui serait la caractéristique de cet état. Enfin il y aurait lieu de ranger dans la même catégorie de phénomènes à signification certaine d'immunité l'élimination des bacilles qui se produit dans certaines circonstances particulières, ainsi que la lyse des bacilles, possible, mais dont l'existence n'a pas encore été irréfutablement démontrée et est encore contestée par bon nombre d'auteurs.

Il est plus malaisé d'attribuer une signification certaine au point de vue de la part qu'ils prennent dans le processus de défense de l'organisme aux autres manifestations de l'allergie tuberculeuse, que nous allons passer en revue en les groupant, selon Courmont (4), dans trois grandes catégories: *a)* réactions à la tuberculine, *b)* réactions générales à la surinfection, *c)* phénomènes locaux de réinfection (phénomène de Koch et semblables).

La physiologie pathologique de ces phénomènes se laisserait réduire, toujours selon Courmont, aux mécanismes suivants :

Pour la réaction à la tuberculine : 1° phénomènes vaso-moteurs se produisant localement et à distance ; 2° modifications cellulaires, aboutissant soit au nodule à structure lymphoïde (localement), soit à la production rapide de nouveaux tubercules (à distance).

Pour les réactions de surinfection : phénomènes vaso-moteurs, vaso-dilatation, avec œdème aigu du poumon et mort rapide.

Pour les réactions de réinfection : *a)* phénomènes vaso-moteurs, *b)* surtout prédominance des phénomènes cellulaires locaux ; inflammation aboutissant à la nécrose (phénomène de Koch) ; processus pyogènes seulement (injections répétées de bacilles morts de Borrel); formation précoce de tubercules (A. Krause).

En ce qui concerne la réaction à la tuberculine, d'une nature si spéciale et déterminée par un produit artificiel qui, selon toute vraisemblance, n'entre pas en jeu dans les réactions de l'organisme tuberculeux, nous ne tenterons pas d'interpréter les différents processus physiologiques qui lui sont propres dans leur relation avec les réactions de défense de l'organisme.

Dans l'état actuel de nos connaissances, nous pouvons tout au plus la considérer comme un témoin de l'infection, et nous demander si en même temps elle est l'expression de l'immunité et si l'existence et le degré de celle-ci peuvent être jugés et appréciés à l'intensité de celle-là S'appuyant sur le fait que, dans l'infection expérimentale à bacilles virulents, ce parallélisme existe en ce sens qu'avec l'augmentation croissante de la sensibilité à la tuberculine nous assistons en même temps à un accroissement de la résistance aux surinfections, et se fondant sur les observations cliniques de certains états physiologiques ou pathologiques reconnus comme favorisant l'évolution de la tuberculose et qui en même temps se sont trouvés être des états anergisants, c'est-à-dire de diminution de la sensibilité à la tuberculine, beaucoup d'auteurs voient dans cette sensibilité le témoin et la mesure de l'immunité.

Certainement, lorsqu'il s'agit d'expériences de réinfection sur des animaux inoculés avec des bacilles virulents, déterminant une infection à évolution progressive et extension continue des lésions, l'augmentation de la sensibilité à la tuberculine ira de pair avec l'état réfractaire de plus en plus marqué vis-à-vis des réinfections. Les expériences d'immunisation avec des bacilles atténués

ont cependant mis en lumière un certain nombre de faits qui prouvent que ce parallélisme est loin d'être constant.

Ainsi Baldwin et Gardner (5) ont constaté que des cobayes réinfectés à de longs intervalles (huit à douze mois) après la première inoculation avec un bacille atténué (souche humaine R_1, de Saranac Lake), présentaient une résistance très prononcée à la réinfection virulente quoiqu'ils n'eussent plus réagi à la tuberculine à ce moment. Il est vrai qu'à la suite de la réinfection la faculté de réagir à la tuberculine est apparue plus tôt chez les animaux réinfectés que chez les témoins recevant la même dose en primo-infection, ce que les auteurs attribuent à une allergie ayant subsisté à l'état latent et réveillée par la réinfection. D'autre part, ils ne se croient autorisés à admettre qu'avec une certaine réserve l'anergie complète de leurs cobayes, étant donné que, n'ayant pratiqué que la réaction intradermique, ils ne peuvent affirmer que la sensibilité à l'injection sous-cutanée était aussi abolie, car on connaîtrait des exemples où cette dernière persistait malgré la disparition de la sensibilité cutanée.

Plus récemment, H.-S. Willis (1), dans le laboratoire d'A. Krause, a réinfecté des animaux immunisés avec le même bacille atténué ((R_1), trente mois après l'inoculation immunisante. Deux ans après celle-ci, ces animaux ne réagissaient plus à l'intradermoréaction avec une dose double de celle avec laquelle ils avaient été éprouvés auparavant. Après vingt-sept mois, un seul animal réagissait encore, et seulement à une dose cinq fois plus grande. Malgré cette anergie pratiquemment complète, ces cobayes ont présenté une immunité très appréciable vis-à-vis d'une réinfection avec des bacilles virulents. Comme dans les expériences de Baldwin et Gardner, dans ce cas aussi la réinfection a réveillé la sensibilité à la tuberculine, qui est apparue plus tôt chez ces animaux que chez les témoins.

Calmette (7) et ses collaborateurs ont montré que l'immunité conférée par les bacilles atténués se constitue progressivement, et sa lenteur à apparaître contraste avec la rapidité de la sensibilisation. Déjà, vers le cinquième jour après l'inoculation sous-cutanée de 50 à 100 milligrammes de bacilles billiés (B. C. G.), les cobayes réagissent à la tuberculine, et du dixième au vingtième jour ils répondent par un phénomène de Koch aux réinoculations de bacilles virulents dans le derme ou sous la peau. Pourtant, à ce même moment, leur réceptivité est à peine modifiée et leur résistance, qui s'accroît par la suite, n'atteint son maximum que vers la quatrième ou sixième semaine après la vaccination. L'im-

munité est donc postérieure à la sensibilité à la tuberculine.

D'un autre côté, des bovidés vaccinés par une injection intraveineuse de 50 à 100 milligrammes de B. C. G. deviennent sensibles à la sous-cutituberculinisation, mais ils réagissent inconstamment aux épreuves dermiques et conjonctivales. Néanmoins, dès la sixième semaine après l'injection vaccinale, ils se montrent réfractaires à une épreuve virulente sévère. Parfois même, ceux dont le tégument s'était montré sensible à la tuberculine, cessent de réagir entre le quatrième et le sixième mois à l'intradermoréaction, tandis que leur immunité persiste intacte plus de douze mois. Ainsi, à une sensibilité médiocre et transitoire correspond une résistance complète et durable aux infections d'épreuve.

Les faits signalés par Lange et Lydtin (8), au cours de leurs expériences d'immunisation avec le B. C. G., sont aussi intéressantes à ce point de vue. Ces auteurs ont constaté que sur les lapins qu'ils avaient immunisés en leur injectant le B. C. G. par différentes voies, c'étaient ceux qui avaient reçu l'infection intraveineuse qui présentaient la résistance la plus marquée aux réinfections virulentes. Or, fait curieux, ces lapins sont, de l'avis des auteurs, précisément ceux chez lesquels la réaction à la tuberculine était la plus faible et inconstante. En échange, les lapins vaccinés par voie sous-cutanée ou intrapéritonéale, qui réagissaient beaucoup mieux à la tuberculine, n'étaient que peu ou presque pas du tout immunisés.

De ces faits, il faut rapprocher aussi l'observation de Boquet (9) de la propriété qu'a le bacille de Johnes de déterminer chez les animaux inoculés une sensibilité marquée à la tuberculine du bacille de Koch, sans cependant leur conférer la moindre immunité ou résistance vis-à-vis de ce bacille.

Nous avons nous-même (10, 11), au cours de nos recherches relatives à l'action des rayons ultra-violets sur la tuberculose expérimentale du cobaye, constaté que cet agent exerce une action franchement opposée sur ces deux éléments : sensibilité à la tuberculine et précocité de la réaction aux réinfections. Tandis que la sensibilité dermique et générale à la tuberculine, aussi bien que celle vis-à-vis de l'action nécrotisante du bacille de Koch, sont remarquablement atténuées par l'action des rayons ultra-violets, l'animal ainsi traité répond à la réinfection intradermique par une réaction plus précoce et une tendance plus marquée à la guérison de la lésion locale.

Comme nous le voyons donc, non seulement la sensibilité à la tuberculine, mais aussi celle aux produits toxiques du bacille

de Koch, n'est pas si intimement liée aux réactions cellulaires de l'allergie et à l'immunité de l'organisme. Déjà, dans leurs recherches sur la réinfection par voie péritonéale, Rist et Rolland (12) avaient constaté qu'un certain nombre de cobayes tuberculeux qui recevaient dans le péritoine une dose de bacilles déterminant généralement l'intoxication aiguë et la mort à bref délai survivaient à cette épreuve tout en manifestant, d'autre part, une immunité très nette qui se traduisait par l'absence de toute lésion tuberculeuse péritonéale. Nous-même, avec V. Ionesco (13, 14), avons pu montrer qu'il suffisait de pratiquer la réinfection plus précocement pour voir que cette issue était la règle. Les animaux supportent la réinfection à grosses doses sans présenter souvent le moindre signe toxique, tout en venant à bout de l'énorme quantité de bacilles qu'on leur injecte et qui ne laissent aucune trace de leur passage dans la cavité péritonéale. Ce degré si marqué de résistance peut souvent se manifester très tôt après la première infection, et même avant l'apparition de la réaction à la tuberculine. Nous avons ensuite complété ces recherches en étudiant comparativement la réaction à la réinfection intrapéritonéale et à celle par voie sous-cutanée, ce qui nous a permis de constater qu'il y avait résistance évidente du péritoine à la réinfection à un moment où la réinfection par voie sous-cutanée ne déterminait pas de phénomène de Koch typique avec nécrose, mais seulement un abcès précoce.

Cette discordance entre les réactions cellulaires, traduisant la sensibilité de ces éléments aux produits du bacille de Koch et l'immunité, se traduit de cette manière lorsqu'il s'agit de la réinfection par voie intrapéritonéale. Dans d'autres circonstances, elle peut se manifester différemment. Telle est l'observation, que nous avons citée déjà, de Calmette, du retard de l'immunité chez des cobayes vaccinés par le B. C. G., qui cependant réagissaient à la réinfection par un phénomène de Koch. Il en est de même des expériences de Boquet et Nègre (15) qui, en préparant des cobayes par des injections de bacilles tuberculeux morts ou vivants, déterminent chez eux, par injection de 2 à 5 milligrammes de bacilles virulents dans le derme, une réaction inflammatoire survenant le lendemain et se terminant en trois ou quatre jours par la suppuration ou la nécrose. Mais la plaie ulcéreuse consécutive ne se cicatrise pas comme dans le phénomène de Koch, les ganglions avoisinants s'hypertrophient et l'infection s'étend aux organes profonds avec la même vitesse et la même intensité que chez les cobayes témoins non préparés. Chez ces animaux, il y avait donc

aussi réaction cellulaire allergique, mais ne s'accompagnant d'aucune résistance appréciable à la réinfection.

Si l'interdépendance des réactions allergiques, vaso-motrices et cellulaires, a été et est encore considérée par beaucoup d'auteurs comme absolue, et si, pour la plupart, le degré d'immunité se mesure à l'intensité de ces réactions, cela provient en bonne partie, croyons-nous, de ce que tous ont eu et ont devant les yeux et ont toujours cherché à reproduire le phénomène de Koch typique. Aussi ont-ils considéré toutes les réactions qui ne présentaient pas l'ensemble complet des éléments propres à celui-ci comme des états incomplets d'allergie et, par conséquent, d'immunité.

A cette fin, la plupart des expériences ayant trait à la réinfection ont été faites sur des animaux arrivés à un degré suffisamment prononcé de sensibilisation, et généralement les réinfections ont été pratiquées avec d'assez fortes doses de bacilles, justement pour provoquer le phénomène typique avec réaction immédiate et nécrose consécutive. Il existe, il est vrai, les expériences de Roemer, de réinfection avec des doses minimes qui ne déterminent aucune réaction ni immédiate ni tardive, et traduisant l'état d'immunité sans aucune manifestation d'allergie: mais cela n'était mis que sur le compte de la dose trop petite pour pouvoir déclancher, même sur un animal en plein état allergique, des réactions d'hypersensibilité.

Quant aux phénomènes intermédiaires entre cette absence complète de réaction et le phénomène de Koch typique, abcès précoce à polynucléaire, sans caséification, phénomène mixte de Bezançon et de Serbonnes, tubercule précoce d'A. Krause, ils sont généralement considérés comme des états incomplets d'allergie et, par conséquent, d'immunité.

Le fait est que, de l'ensemble des données que nous possédons jusqu'en ce moment, la conviction de la stricte interdépndance des phénomènes allergiques d'hypersensibilité avec l'état d'immunité, et à plus forte raison l'explication du mécanisme de celle-ci par les processus physiologiques propres à ceux-là, ne nous semblent pas s'imposer à l'esprit de manière suffisamment démonstrative.

*
**

RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons dit plus haut que la plupart des expérimentateurs s'étaient attachés à reproduire le phénomène de Koch typique et, à cette fin, avaient généralement étudié la réinfection par de fortes

doses de bacilles de Koch. Or, cette technique est précisément celle qui se prête le moins à l'éclaircissement du problème qui nous préoccupe. En premier lieu, il s'agit là de conditions beaucoup trop éloignées des circonstances naturelles de l'infection ou réinfection spontanée. En second lieu, avec des doses dépassant des centaines et des milliers de fois (si pas plus) les doses minima mortelles, il n'est pas étonnant de ne pas pouvoir déceler des degrés de l'état de résistance de l'organisme et, d'un autre côté, de voir tous les autres processus physiologiques masqués par l'intensité disproportionnée des réactions allergiques.

Aussi nous a-t-il semblé intéressant d'étudier d'abord la réinfection tuberculeuse avec de très petites et même des doses minimes. En second lieu, nous nous sommes proposé de suivre les différentes modalités de la réaction de réinfection et de l'immunité à leur état précoce, c'est-à-dire dans les tout premiers temps qui suivent l'infection, et cela dans le but de nous rendre compte du moment de leur apparition, de leur évolution et des phénomènes par lesquels à ce moment elles se manifestent.

D'un autre côté, nous avons répété ces mêmes expériences sur des animaux ayant été depuis longtemps infectés, afin de voir non seulement comment naissent l'allergie et l'immunité, mais, si possible, aussi comment elles disparaissent. Bien entendu, ces expériences ne pouvaient être faites que sur des animaux inoculés avec des bacilles morts ou atténués (c'est le B. C. G. dont nous nous sommes servi). Ceci nous a permis d'étudier ces réactions à une période à laquelle elles n'avaient fait l'objet que de très peu d'études, l'évolution progressive de l'infection ne permettant pas de la réaliser chez les animaux inoculés avec des bacilles vivants virulents.

Enfin, pour avoir le plus de données, nous avons, dans une série d'expériences, varié les doses de réinfection en laissant les doses de première infection constante; dans une autre série, au contraire, nous avons, pour des réinfections à même dose, varié la dose, la voie et la nature de la première infection.

Nos expériences ont porté en tout sur onze séries de cobayes. Nous exposerons plus bas brièvement le plan de chacune de ces expériences, renvoyant pour les détails et résultats aux tableaux respectifs, ainsi qu'aux discussions et commentaires qui les suivront.

Première série. — Cobayes témoins, injectés dans le derme de la face intérieure de la cuisse avec les différentes doses 1/100^{e}, 1/1000^{e}, 1/10.000^{e}, 1/100.000^{e} et 1/1.000.000^{e} de milligramme

de bacilles de la souche bovine Vallée, qui ont toutes servi aux réinfections dans nos expériences, excepté la dernière, que nous n'avons employée que chez les témoins.

Deuxième série. — Cobayes inoculés avec 1/1000e de milligramme bovine Vallée, bacilles vivants, sous la peau et en avant de l'épaule droite, et réinfectés avec 1/100e de milligramme de bacilles vivants de la même souche dans le derme de la face interne de la cuisse, à des intervalles de six, douze, dix-sept, vingt-six, trente-quatre et quarante jours après la première infection.

Troisième série. — Cobayes inoculés et réinfectés avec les mêmes bacilles, les mêmes doses et aux mêmes jours que ceux de la série précédente, mais ayant subi un traitement par les rayons ultra-violets.

Quatrième série. — Cobayes inoculés avec 1/1000e de milligramme de la même souche de bacilles vivants *dans le derme,* sur la paroi antérieure du thorax, et réinfectés avec 1/100e de milligramme des mêmes bacilles vivants, dans le derme de la face interne de la cuisse, six, treize, vingt-deux, trente, trente-six, quarante et un et quarante-neuf jours après la première infection.

Cinquième série. — Cobayes inoculés avec la même dose et la même souche de bacille que ceux de la série précédente, mais *dans le péritoine,* réinfectés par la même voie, aux mêmes doses et aux mêmes jours que les précédentes.

Sixième série. — Cobayes inoculés dans le péritoine avec 1 centigramme de B. C. G.; réinfectés dans le derme avec 1/100e de milligramme de la souche bovine Vallée six, quatorze, vingt, vingt-six, trente-trois et quarante-deux jours après la première infection.

Septième série. — Cobayes inoculés dans le péritoine avec 1 centigramme de bacilles de la souche bovine Vallée *tués* par la chaleur; réinfectés dans le derme de la face interne de la cuisse après sept, douze, vingt, trente, quarante et cinquante-deux jours.

Huitième série. — Cobayes inoculés dans le péritoine avec 1/10e de milligramme de la même souche de bacilles tués par la chaleur et réinfectés de la même manière, aux mêmes doses et mêmes jours que les précédents.

Neuvième et dixième série. — Cobayes inoculés sous la peau avec 1/1000e de milligramme de bacilles vivants de la souche

bovine Vallée, et réinfectés dans le derme les uns avec 1/1000e de milligramme, les autres avec 1/10.000e de milligramme de bacilles de la même souche; après sept, seize, dix-sept, vingt-quatre, vingt-six, trente-deux, trente-sept et quarante-cinq jours. Si nous avons réuni dans un même groupe ces deux séries de cobayes, c'est que, pour un certain nombre d'entre eux, nous avons pratiqué les deux réinfections, celle avec 1/1000e et celle avec 1/10.000e de milligramme sur le même animal, une à chaque cuisse.

Onzième série. — Cobayes ayant reçu par différentes voies, et généralement à la dose de 1 centigramme de B. C. G. (la dose a été de 20 centigrammes pour deux cobayes vaccinés *per os*) et réinfectés dans le derme de la cuisse avec des doses de 1/10.000e et 1/100.000e de milligramme de bacilles vivants de la souche bovine Vallée, et cela à des intervalles d'au moins un mois et de pas plus de sept mois après la première injection.

Voici, présentés sous forme de tableaux, les détails et les résultats de ces expériences.

COMMENTAIRES

Résumons maintenant et discutons le résultat de ces expériences.

Première série. — Au sujet des témoins, nous avons à retenir d'abord que, en exceptant un seul cobaye des deux qui avaient été inoculés avec 1/1.000.000e de milligramme, chez lequel la réaction locale est apparue après vingt-six jours, pour aucun des autres elle n'a dépassé le délai maximum de dix-huit jours et le minimum de huit. Nous constatons la progression de ce retard au fur et à mesure que la dose diminue, ainsi que la prolongation de la survie. Pour ce qui est de l'évolution de la lésion locale, elle aboutit toujours à l'ulcération, avec tendance à subsister en cet état jusqu'au moment de la mort. La tendance à la guérison ne se fait jour que lorsqu'on a injecté de très petites doses : 1/100.000e ou 1/1.000.000e de milligramme, et encore pas constamment.

Deuxième série. — Très tôt, dès le septième jour, au moment où la sensibilité à la tuberculine n'est pas encore établie et que la réaction locale ne se traduit pas encore par un caractère allergique, apparaissant dans le même délai que chez le témoin (sept

à neuf jours), il y a déjà une différence en ce sens que l'ulcération de réinfection est moindre et manifeste déjà une tendance à la guérison, qui sera plus nette encore pour les réinfections pratiquées dans la suite (absence ou retard de l'ulcération, ou bien guérison de celle-ci). Enfin un état de résistance indiscutable (longueur de la survie, tendance à la guérison de la lésion locale) se manifeste le trente-quatrième jour, malgré qu'à ce moment l'allergie se traduise à peine par une avance de trois à quatre jours seulement dans l'apparition de la lésion de réinfection et que celle-ci n'ait par ailleurs aucun autre caractère de réaction cellulaire d'hypersensibilité.

Troisième série. — L'apparition précoce des signes de résistance est encore plus marquée que dans la série précédente. A la réinfection pratiquée dès le sixième et le douzième jour, la tendance à la guérison de la lésion locale de réinfection est déjà manifeste chez le n° 2, la survie est déjà sensiblement augmentée; cependant, il n'y a pas de sensibilité à la tuberculine jusqu'au dix-septième jour. En échange, le douzième jour, malgré l'absence de sensibilité à la tuberculine, la réaction à la réinfection est déjà accélérée (quatre jours); donc, discordance entre la sensibilité à la tuberculine et les réactions allergiques cellulaires. Mais, en plus, phénomène déjà ébauché dans la première série et que nous retrouverons plus nettement ici, ainsi que dans certaines des séries suivantes, les réactions cellulaires ne vont pas en augmentant progressivement leur caractère allergique, c'est-à-dire leur précocité. Quoique la résistance générale à la réinfection, — tendance de plus en plus marquée à la guérison de la lésion locale et longueur de la survie, — ainsi que la sensibilité à la tuberculine, aille en augmentant, nous voyons la réaction locale apparaître de nouveau en retard (neuf jours, sept jours), revenir à quatre jours, degré de précocité qu'elle avait déjà atteint deux semaines auparavant, et le dépasser ensuite (trois jours). Nous assistons ici à de vraies fluctuations dans l'apparition du caractère allergique des réactions cellulaires.

Quatrième série. — A noter le même caractère, modifié dans le sens de la résistance, et la tendance à la guérison de la lésion de réinfection à partir du sixième jour. Ce caractère est encore plus évident ici, puisque la primo-infection, pratiquée par la même voie intradermique et avec une dose dix fois moindre (1/1000^{e} de milligramme), détermine une lésion infiniment plus grande et persistant, sans la moindre tendance à la guérison, jusqu'à la

TABLEAU N° I

PREMIÈRE SÉRIE. — Cobayes témoins.

N°	Date de l'inoculation	Dose	Intervalle jusqu'à l'apparition de la lésion locale	Caractère et évolution de la lésion	Date de la mort	Durée de la survie	Autopsie
1.	21.II	1/100 mg.	9 jours	Nodule, abcès fistulisé le 15e jour ; l'ulcération persiste jusqu'à la mort.	14.IV	53 jours	Tuberculose généralisée.
2.	13.III	1/100 mg.	8 »	Nodule, abcès, ulcère le 10e jour; l'ulcère persiste à la mort.	22.V	69 »	» »
3.	9.IV	1/1.000 mg.	15 »	Nodule, abcès, ulcère le 12e jour; l'ulcère persiste à la mort.	19.VII	100 »	» »
4.	13.III	1/10.000 mg.	12 »	Nodule, abcès ulcéré le 14e jour. Un petit ulcère persiste à la mort.	11.V	58 »	Tuberculose de la rate. Foie et poumons indemnes.
5.	3.IV	1/10.000 mg.	13 »	Nodule, ulcère le 15e jour.	7.V	35 »	Ganglions inguinaux caséeux. Rate, foie et poumons indemnes.
6.	15.VI	1/10.000 mg.	15 »	Nodule, ulcération à fond caséeux persistant jusqu'à la mort. Abcès du paquet ganglionnaire inguinal.	17.VIII	31 »	Ganglions inguinaux caséeux. Quelques tubercules dans la rate.
7.	15.VI	1/10.000 mg.	18 »	Nodule, abcès ulcéré persistant jusqu'à la mort.	16.IX	91 »	Rate de grosseur moyenne, avec quelques foyers caséeux ; abcès caséeux des deux poumons.
8.	15.VI	1/100.000 mg.	17 »	Mêmes lésions et même évolution que le précédent.	31.X	106 »	Tuberculose généralisée.
9.	15.VI	1/100.000 mg.	18 »	Nodule, abcès ulcéré, en voie de cicatrisation vers le 159e jour.	»	Plus de 159 jours	
10.	15.VI	1/1000.000 mg.	18 »	Petit nodule ulcéré, se cicatrisant. Au moment de la mort, aucune lésion locale. Gros paquet ganglionnaire inguinal abcédé.	17.XI	150 »	Grosse rate contenant quelques nodules. Foie scléreux, abcès caséeux des poumons. Hémorragie par rupture de la rate.
11.	15.VI	1/1000.000 mg.	26 »	Nodule, abcès, ulcération, persistant au moment de la mort sous forme d'une solution de continuité de la peau recouvrant une surface légèrement purulente. Gros paquet ganglionnaire inguinal abcédé.	28.XI	159 »	Grosse rate contenant quelques foyers caséeux. Acès caséeux des poumons. Pleurésie à pneumocoques.

TABLEAU N° II

DEUXIÈME SÉRIE. **Cobayes infectés avec 1 1.000 de milligramme de bacilles vivants sous la peau, réinfectés avec 1 100 de milligramme dans le derme.**

N°	Date de la primo-infection	Dose	Date de la réinfection	Intervalle	Réaction à la tuberculine	Apparition de la lésion de réinfection	Intervalle	Nature et évolution de la lésion de réinfection	Date de la mort	Survie	Autopsie
1	14.II	1/1.000 mg.	21.II	6 jours	1/100 — 0 1/50 — 0	29.II	7 jours	Nodule, abcès ulcéré le 8e jour ; une très petite ulcération au moment de la mort.	31.III	(1 47 jours 41 »	Tuberculose généralisée.
2.	14.II	»	27.II	12 »	1/100 — 0 1/50 — 0	7.III	9 »	Nodule non ulcéré au moment de la mort (7e jour).	24.III	30 » 18 »	Ganglions inguinaux hypertrophiés. Quelques tubercules dans la rate.
3.	»	»	3.III	17 »	1/100 — + 1/50 — ++	7.III	4 »	Nodule n'ayant pas ulcéré jusqu'à la mort (38 jours).	29.III	45 » 38 »	Pneumonie, pneumococcie. Quelques tubercules dans la rate.
4.	»	»	13. »	26 »	1/100 — ++ 1/200 — ++	15.III	3 »	Nodule ulcéré le 8e jour, cicatrisé après 11 jours, presque disparu au moment de la mort.	25.V	100 » 94 »	Tuberculose généralisée.
5.	»	»	21.III	34 »	1/200 — +++	26.III	5 »	Nodule ulcéré après 8 jours. Cicatrisé après 18 jours. Au moment de la mort, il y a une ulcération de la peau sur un fond de tissu de granulation, sans pus ni substance caséeuse.	21.VI	114 » 80 »	Lésions discrètes de la rate.
6.	»	»	27.III	40 »	1/500 — +++ (nécrose)	28.III	3 »	Nodule non ulcéré jusqu'à la mort (30 jours).	28.IV	74 » 30 »	Quelques tubercules dans la rate.

(1) Nous avons marqué la survie par deux chiffres : l'un, celui d'en haut, représentant la survie à partir du moment de la primo-infection ; celui d'en bas, la survie calculée à partir du moment de la réinfection.

TABLEAU N° III

TROISIÈME SÉRIE. — **Cobayes infectés avec 1/1.000 de milligramme de bacilles vivants sous la peau, réinfectés avec 1/100 de milligramme dans le derme, et ayant subi un traitement par les rayons ultra-violets.**

N°	Date de la primo-infection	Dose	Date de la réinfection	Intervalle	Réaction à la tuberculine	Apparition de la lésion de réinfection	Intervalle	Nature et évolution de la lésion de réinfection	Date de la mort	Survie	Autopsie
1.	14.II	1/1.000 mg.	21.II	6 jours	1/50 — o 1/100 — o	28.II	6 jours	Nodule, abcès, ulcéré après 19 jours, cicatrisé après 20 jours ; au moment de la mort, petit ulcère sur fond de tissu de granulation.	11.IV	55 jours 49 »	Tuberculose généralisée.
2.	14.II	»	27.II	12 »	1/50 — o 1/100 — o	2.III	4 »	Nodule, abcès, ulcéré après 8 jours ; au moment de la mort, même lésion que chez le précédent.	19.V	93 » 81 »	» »
3.	»	»	3.III	17 »	1/50 — + 1/100 — o	—	Plus de 9 jours	Aucune lésion locale au moment de la mort (9 jours).	12.III	26 » 9 »	Ganglions inguinaux caséeux.
4.	»	»	13.III	26 »	1/100 — + 1/200 — +	20.III	7 »	Nodule n'ayant pas ulcéré jusqu'à la mort ; à ce moment, minime abcès en kyste contenant une goutte de pus.	3.V	87 » 61 »	Tuberculose généralisée.
5.	»	»	21.III	34 »	1/200 — ++	25.III	4 »	Nodule ulcéré après 8 jours, cicatrisé 4 jours plus tard. Au moment de la mort, une minime ulcération à fond de tissu de granulation.	22.V	96 » 62 »	» »
6.	«	»	27.III	40 »	1/500 — +++	30.III	3 »	Nodule, abcès, ulcération qui persiste jusqu'à la mort sur fond rouge, sans pus ni substance caséeuse.	4,VI	108 » 68	» »

TABLEAU N° IV

QUATRIÈME SÉRIE. — **Cobayes infectés avec 1/1.000 de milligramme de bacilles vivants dans le derme, réinfectés avec 1/100 de milligramme dans le derme.**

N°	Date de la primo-infection	Dose	Date de la réinfection	Intervalle	Réaction à la tuberculine	Apparition de la lésion de réinfection	Intervalle	Nature et évolution de la lésion de réinfection	Date de la mort	Survie	Autopsie
1.	27.III	1/1.000 mg.	2.IV	6 jours	1/50 — +	6.IV	4 jours	Nodule, abcès ulcéré après 8 jours ; l'ulcération persiste, mais à fond complètement propre de tissu de granulation jusqu'à la mort (1).	30.VI	93 jours 87 »	Tuberculose généralisée.
2.	»	»	9.IV	13 »	1/50 — ++	18.IV	9 »	Nodule, abcès ; après 21 jours, ulcération qui arrive à de grandes dimensions pour disparaître presque complètement à la mort.	16.VIII	139 » 126 »	» »
3.	»	»	18.IV	22 »	1/100 — ++	23.IV	5 »	Petit nodule ; après 7 jours, ulcération qui persiste jusqu'à la mort.	2.VIII	125 » 103 »	» »
4.	»	»	26.IV	30 »	1/200 — ++	30.IV	4 »	Nodule, gros abcès ulcéré après 30 jours ; au moment de la mort, grosse ulcération à fond caséeux.	30.VI	87 » 57 »	» »
5.	»	»	2.V	36 »	1/400 — +	6.V	4 »	Nodule ulcéré ; après 20 jours, au moment de la mort, une minime ulcération contenant une goutte de pus crémeux.	5.VI	62 » 26 »	» »
6.	»	»	7.V	41 »	1/400 — +	14.V	8 »	Nodule ulcéré après 12 jours ; au moment de la mort, une minime ulcération sans pus ni substance caséeuse.	18.VI	75 » 34 »	» »
7.	»	«	15.V	49 »	—	17.V	2 »	Grosse réaction inflammatoire, abcès diffus qui ensuite se localise ; ulcère après 18 jours, laissant une minime fistule sans pus ni substance caséeuse au moment de la mort.	7.VII	100 » 51 »	» »

(1) Tous les cobayes de cette série présentaient, au moment de la mort, une immense ulcération à fond caséeux, à l'endroit de la primo-infection.

TABLEAU N° V

CINQUIÈME SÉRIE. — **Cobayes infectés avec 1/1.000 de milligramme de bacilles vivants dans le péritoine, réinfectés avec 1/100 de milligramme dans le derme.**

N°	Date de la primo-infection	Dose	Date de la réinfection	Intervalle	Réaction à la tuberculine	Apparition de la lésion de réinfection	Intervalle	Nature et évolution de la lésion de réinfection	Date de la mort	Survie	Autopsie
1.	27.III	1/1.000 mg.	2.IV	6 jours	1 50 — 0	6.IV	4 jours	Nodule ulcéré après 8 jours ; au moment de la mort, il persiste une grosse ulcération, mais à fond rouge granuleux.	10.VI	73 jours 67 »	Tuberculose généralisée.
2.	»	»	9.IV	13 »	1/50 — ++	18.IV	9 »	Nodule, abcès n'ayant pas ulcéré jusqu'à la mort ; à ce moment, il existe cependant un gros abcès à contenu caséeux.	25.V	58 » 45 »	» »
3.	»	»	18.IV	22 »	1/100 — ++	22.IV	4 »	Minime nodule, ulcéré après 15 jours ; l'ulcération à fond de tissu de granulation persiste à la mort.	19.V	52 » 30 »	» »
4.	»	»	26.IV	30 »	1/200 — ++	30.IV	4 »	Nodule ulcéré après un mois ; au moment de la mort, très petite ulcération contenant une goutte de pus.	30.VIII	153 » 123 »	» »
5.	»	»	2.V	36 »	1/400 — ++	7.V	5 »	Petit nodule ulcéré après 10 jours, complètement cicatrisé au moment de la mort.	25.VIII	148 » 112 »	» »
6.	»	»	7.V	41 »	1/400 — ++	—	Plus de 14 jours	Aucune lésion jusqu'au 14e jour, date de la mort.	22.V	55 » 14 »	» »
7.	»	»	15.V	49 »	—	—	Plus de 13 jours	Aucune lésion jusqu'au moment de la mort.	29.V	62 » 13 »	« «

TABLEAU N° VI

SIXIÈME SÉRIE. — Cobayes infectés avec 1 centigramme de B. C. G. dans le péritoine, réinfectés avec 1/100 de milligramme de bacilles vivants dans le derme.

N°	Date de la primo-infection	Dose	Date de la réinfection	Intervalle	Réaction à la tuberculine	Apparition de la lésion de réinfection	Intervalle	Nature et évolution de la lésion de réinfection	Date de la mort	Survie	Autopsie
1.	7.III	1 ctgr.	13.III	6 jours	1/50 — 0	21.III	8 jours	Nodule, abcès ; après 15 jours, ulcération à fond, complètement détergé au moment de la mort.	25.V	72 jours (1)	Tuberculose généralisée.
2.	»	«	21.III	14 »	1/50 — +	26.III	5 »	Nodule, abcès ; après 11 jours, ulcération qui persiste au moment de la mort.	21.VIII	150 »	» »
3.	»	»	27.III	20 »	1/100 — ++	29.III	2 »	Nodule, abcès ; après 10 jours, ulcération qui persiste jusqu'à la mort.	27.VIII	130 »	» »
4.	»	»	2.IV	26 »	1/200 — ++	8.IV	6 »	Nodule, abcès ; après 13 jours, ulcération qui se cicatrise à un moment, pour se rouvrir ensuite et persiste jusqu'à la mort.	28.IX	165 »	» »
5.	»	»	9.IV	33 »	1/200 — ++	13.IV	4 »	Nodule, abcès ; après 17 jours, ulcération avec tendance à la guérison, de beaucoup diminuée, mais persistant encore à la mort.	8.VIII	97 »	» »
6.	»	»	18.IV	42 »	1/500 — —	21.IV	3 »	Nodule, abcès ; après 9 jours, ulcération complètement guérie au moment de la mort.	3.VI	45 »	Pneumonie, pleurésie purulente à pneumocoques. Pas de lésions tuberculeuses.

(1) Dans cette série, nous n'avons compté la survie qu'à partir du moment de la réinfection virulente.

TABLEAU N° VII

SEPTIÈME SÉRIE. — **Cobayes infectés avec 1 centigramme de bacilles morts dans le péritoine, réinfectés avec 1/100 de milligramme de bacilles vivants dans le derme.**

N°	Date de la primo-infection	Dose	Date de la réinfection	Intervalle	Réaction à la tuberculine	Apparition de la lésion de réinfection	Intervalle	Nature et évolution de la lésion de réinfection	Date de la mort	Survie	Autopsie Tuberculose
1.	26.IV	1 ctgr	2.V	7 jours	1/50 — +	14.V	12 jours	Nodule, abcès ; après 8 jours, ulcération énorme qui persiste jusqu'à la mort. A ce moment, ulcération aussi du paquet ganglionnaire inguinal.	25.IX	112 jours	généralisée.
2.	»	»	7.V	12 »	1/100 — +	14.V	7 »	Nodule, abcès ; ulcération après 8 jours ; au moment de la mort, mêmes lésions que le précédent.	25.IX	105 »	» »
3.	»	»	15.V	20 »	1/100 — + +	19.V	4 »	Nodule, abcès ; après 20 jours, ulcération qui guérit passagèrement pour persister jusqu'à la mort.	27.IX	132 »	» »
4.	»	»	25.V	30 »	—	31,V	6 »	Nodule, abcès ; après 16 jours, ulcération persistant jusqu'à la mort.	19.IX	112 »	» »
5.	»	»	4.VI	40 »	—	13.VI	9 »	Nodule, abcès ; après 6 jours, ulcération qui persiste jusqu'à la mort, mais avec un fond de tissu de granulation sans pus ni substance caséeuse.	17.IX	103 »	» »
6.	»	«	16.VI	52 »	—	25.VI	9 »	Nodule, abcès ; ulcération persistant jusqu'à la mort.	2.X	112 »	» »

(1) La survie est comptée à partir du moment de la réinfection virulente.

TABLEAU N° VIII

HUITIÈME SÉRIE. — **Cobayes infectés avec 1/10 de milligramme de bacilles morts dans le péritoine, réinfectés avec 1/100 de milligramme de bacilles vivants dans le derme.**

N°	Date de la primo-infection	Dose	Date de la réinfection	Intervalle	Réaction à la tuberculine	Apparition de la lésion de réinfection	Intervalle	Nature et évolution de la lésion de réinfection	Date de la mort	Survie	Autopsie
1.	26.IV	1/10 mg.	2.V	7 jours	1/50 — o	—	Plus de 9 jours	Aucune lésion locale jusqu'au moment de la mort.	11.V	9 jours	—
2.	»	»	7.V	12 »	1/100 — +	17.V	10 »	Nodule ; ulcération après 5 jours, réduite à des proportions minimes au moment de la mort.	17.VIII	100 »	Tuberculose généralisée à lésions discrètes dans tous les organes.
3.	»	»	15.V	20 »	—	26.V	11 »	Nodule, abcès ; après 10 jours, ulcération dont il ne reste qu'une croûte recouvrant une surface de tissu de granulation sans pus ni substance caséeuse. Ulcération du paquet ganglionnaire inguinal.	2.IX	117 »	Tuberculose généralisée.
4.	»	»	25.V	30 »	—	13.VI	18 »	Nodule, abcès ; après 6 jours, ulcération.	2.VII	37 »	Pneumonie et pleurésie purulente à pneumocoques.
5.	»	»	4.VI	40 »	—	11.VI	7 »	Petit nodule ; après 9 jours, ulcération persistant jusqu'à la mort, avec contenu caséeux.	30.X	146 »	Tuberculose généralisée ; lésions moyennes de la rate et du foie ; poumons indemnes.
6.	»	»	16.VI	52 »	1/500 — o	6.VII	18 »	Nodule, abcès ; grosse ulcération à fond caséeux persistant jusqu'au 158e jour.	Est en vie	Plus de 158 jours	—

TABLEAU N° IX

NEUVIÈME ET DIXIÈME SÉRIES. — **Cobayes infectés avec 1/1.000 de milligramme de bacilles vivants sous la peau, réinfectés avec 1/1.000 et 1/10.000 de milligramme dans le derme.**

N°	Date de la primo-infection	Dose	Date de la réinfection	Dose	Intervalle	Réaction à la tuberculine	Apparition de la lésion de réinfection	Intervalle	Nature et évolution de la lésion de réinfection	Date de la mort	Survie	Autopsie
1.	2.IV	1/1.000 mg.	9.IV	1/1.000 mg.	7 jours	1/50 — +	18.IV	9 jours	Nodule, abcès ; après 19 jours, ulcération dont il ne reste qu'une petite croûte recouvrant un tissu de granulation.	11.VII	99 jours	Tuberculose généralisée.
				1/10.000 mg.			21.IV	12 »	Nodule, abcès, rétrocédant sans ulcérer et presque complètement disparu au moment de la mort.			
2.	2.IV	»	18.IV	1/1.000 mg.	16 »	1/50 — ++	24.IV	6 »	Nodule, abcès ; après 49 jours, ulcération ; au moment de la mort, petite collection de pus.	22.VI	80 »	» »
				1/10.000 mg.			7.V	19 »	Nodule rétrocédant pour ne laisser aucune trace au moment de la mort.			
3.	14.II	»	3.III	1/1.000 mg.	17 »	1/50 — ++ 1/100 — +	26.III	23 »	Petit nodule n'ayant pas ulcéré jusqu'à la mort, contenant à ce moment une goutte de substance caséeuse.	18.IV	64 »	» »
4.	»	»	»	»	»	1/50 — ++ 1/100 — +	20.III	17 »	Petit nodule n'ayant jamais ulcéré, contenant au moment de la mort une goutte de pus.	11.IV	54 »	Lésions peu avancées, mais dans tous les organes.
5.	»	»	»	1/10.000 mg.	»	1/50 — ++	20.III	»	Petit nodule n'ayant	27.IV	75 »	Tuberculose

										moment de la mort quelques gouttes de substance caséeuse.				
7.	2.IV	»	26.IV	1/1.000 mg.	24 »	1/100 — ++	3.V	8 »	Petit nodule n'ayant pas ulcéré et complètement résorbé au moment de la mort.	18.VI	76	»	Tuberculose généralisée, mais à lésions discrètes.
				1/10.000 mg.			22.V	27 »	Minime nodule, complètement disparu au moment de la mort.				
8.	14.II	»	13.III	1/1.000 mg.	26 »	1 100 — ++ 1/200 — ++	20.III	7 »	Nodule n'ayant pas ulcéré jusqu'à la mort, contenant à ce moment un petit abcès caséeux.	24.VI	70	»	Tuberculose généralisée.
9.	»	»	»	1/1.000 mg.	26 »	1/100 — + 1/200 — +	20.III	7 »	Même lésion et même évolution que le précédent.	3.V	79	»	» »
10.	2.IV	»	2.V	1/1 000 mg.	32 »	1/200 — ++	11.V	9 »	Nodule minime n'ayant pas ulcéré jusqu'à la mort.	10.VI	68	»	» »
				1/10.000 mg.			»	Plus de 38 jours	Aucune lésion décelable jusqu'au moment de la mort.				
11.	2.IV	»	7.V	1/1.000 mg.	37 »	1/400 — —+	14.V	7 jours	Nodule ulcéré après 24 jours, cicatrisé au moment de la mort.	27.VII	95	»	» »
				1/10.000 mg.			20.V	13 »	Minime nodule n'ayant pas ulcéré, complètement disparu au moment de la mort.				
12.	2.IV	»	15.V	1/1.000 mg.	45 »		17.V	2 »	Nodule, abcès n'aboutissant pas à l'ulcération, mais persistant encore au moment de la mort.	19.VI	77	»	» »
				1/10.000 mg.			»	2 »	Même lésion que plus haut.				

TABLEAU N° X

ONZIÈME SÉRIE. — Cobayes infectés avec différentes doses de B. C. G. et par différentes voies, réinfectés un long intervalle après avec 1/10.000 et 1/100.000 de milligramme de bacilles virulents vivants dans le derme.

N°	Date de la primo-infection	Dose	Voie	Date de la réin-fection	Dose	Intervalle	Apparition de la lésion de réinfection	Intervalle
1.	3.I	1 ctgr.	Péritonéale	15.VI	1/100.000 mg.	5 mois 10 jours	17.VIII	60 jours
2.	19.I	»	»	»	1/100.000 mg.	5 » 4 »	—	Plus de 30 jours
3.	19.I	»	»	»	1/100.000 mg.	» » » »	29.VIII	72 jours
4.	12.XII.27	»	Sous-cutanée	»	1/10.000 mg.	7 mois	17.VIII	60 »
5.	16.I	»	»	»	1/10.000 mg.	5 »	17.VIII	60 »
6.	7.II	»	Intracardiaque	»	1/100.000 mg.	4 mois 8 jours	29.VIII	72 »
7.	7.II	»	»	»	1/10.000 mg.	» »	—	Plus de 80 jours
8.	20.II	»	Péritonéale	»	1/100.000 mg.	4 » 5 »	—	Plus de 84 jours
9.	9.IV	20 ctgr.	*Per os*	»	1/100.000 mg.	2 » 7 »	6.VII	21 jours
10.	9.IV	»	»	»	1/10.000 mg.	» » » »	6.II	21 »
11.	7.V	1 ctgr.	Sous-cutanée	»	1/10.000 mg.	1 » 8 »	6.II	21 »

(1) Une bonne partie de ces cobayes étant encore en vie au moment de la rédaction de notre travail, nous n'avons tenu compte dans notre tableau que du moment d'apparition de la réaction locale.

mort. D'autre part, la primo-infection par voie intradermique semble sensibiliser plus rapidement à la tuberculine (épreuve intradermique tout au moins) et en même temps hâter la précocité de la réaction locale. En échange, cette série nous donne encore plus nettement le spectacle de la fluctuation de cette précocité. Déjà, à la seconde réinfection, le treizième jour, la réaction locale, qui était apparue sept jours auparavant après quatre jours seulement, maintenant met neuf jours à paraître, suit une nouvelle période d'accélération après laquelle nous voyons à nouveau la réaction mettre huit jours à se produire pour, quelques jours après, se traduire par une vraie réaction accélérée en deux jours.

Cinquième série. — Mêmes considérations concernant le caractère précoce de résistance de la lésion de réinfection. Quoique la sensibilité à la tuberculine soit en retard sur la série précédente, le caractère allergique de la réaction cellulaire est tout aussi précoce (lésion apparaissant le quatrième jour à la réinfection pratiquée après six jours). La fluctuation dans la précocité est la même que pour la série précédente : une première accélération de la réaction, suivie d'un retard modéré la première fois (neuf jours), plus accentué la seconde fois (quatorze et treize jours).

Sixième série. — Malgré la dose plus forte de bacilles chez le cobaye inoculé avec le B. C. G., la sensibilité à la tuberculine s'installe avec un certain retard, tandis que l'accélération de la réaction locale atteint assez tôt son premier maximum (le vingtième jour), suivi cependant d'un nouveau retard et d'une nouvelle accélération. Pourtant la tendance à la guérison de la lésion locale se manifeste plus tard que pour les séries précédentes ; elle n'est donc pas en rapport direct avec la précocité de la réaction locale.

Septième série. — L'accélération de la réaction locale est moins marquée que pour la série précédente. Son premier maximum, quoique atteint après le même intervalle (vingt jours), ne descend que jusqu'à quatre jours, pour ensuite être remplacé par un retard augmentant jusqu'au cinquante-deuxième jour, quand nous avons arrêté nos observations. La tendance à la guérison de la lésion locale de réinfection est très peu marquée, moins encore que pour la série précédente, puisque, même chez les derniers animaux réinfectés, nous avons trouvé à la mort une grosse ulcération contenant de la substance caséeuse, aspect en tous points semblable à la lésion des témoins inoculés avec la même dose. Pourtant, — fait curieux, — chez les cobayes de cette série comme

chez ceux de la série précédente, la survie nous a semblé en moyenne dépasser celle des témoins, ainsi que celle des cobayes des séries précédentes.

Huitième série. — Ici, un fait curieux à relever : non seulement on ne constate à aucun moment une accélération de la réaction de réinfection, mais au contraire il se manifeste un retard dans l'apparition des réactions, qui devient, avec de petites fluctuations, de plus en plus marqué, atteignant des délais que nous n'avons jamais constatés chez le cobaye témoin, même inoculé avec des doses moindres. Il ne s'agit donc pas là d'une réaction normale, mais bien d'une réaction modifiée cependant dans un sens contraire. De plus, cette réaction coïncide avec une tendance à la guérison de la lésion locale, pas très nette, il est vrai, mais en tous cas plus marquée que chez les séries précédentes (septième et sixième). En plus, nous rencontrons dans cette série les plus longues survies, qui témoignent aussi d'une résistance générale augmentée. Il est encore intéressant à remarquer que la longueur de la survie va en augmentant constamment et est plus longue chez le cobaye qui a manifesté le plus grand retard dans l'apparition de la lésion locale de réinfection.

Neuvième et dixième séries. — Dans ces deux séries apparaît avec une netteté encore plus grande la modification de la réaction de réinfection dans le sens d'un retard dans son apparition. Tandis que, chez les cobayes témoins, la réaction de réinfection se traduit par un nodule apparaissant entre le douzième et le dix-huitième jour pour les doses entre 1/1000e et 1/100.000e de milligr. nous voyons la réaction de réinfection à la dose de 1/1000e de milligramme, après une accélération modérée et transitoire (neuf et six jours), apparaître avec un grand retard (dix-sept à vingt-trois jours) pour ensuite seulement s'accélérer jusqu'à apparaître en deux jours (réinfection du quarante-cinquième jour).

Pour la réinfection avec 1/10.000e de milligramme, le retard se manifeste dès le début (dix-huit à vingt-trois jours et plus), pour aboutir plus tard à la même accélération qu'avec la dose précédente. Malgré cette longue période « d'anergie », dirait-on si on s'en tenait à la notion courante, au point de vue de la réaction cellulaire locale, les animaux font pourtant preuve pendant ce temps d'une résistance locale assez marquée, comme le prouvent les dimensions moindres et surtout la tendance beaucoup plus marquée à la guérison de la lésion de réinfection, comparée à celle des témoins. Ici, d'ailleurs, nous constatons les

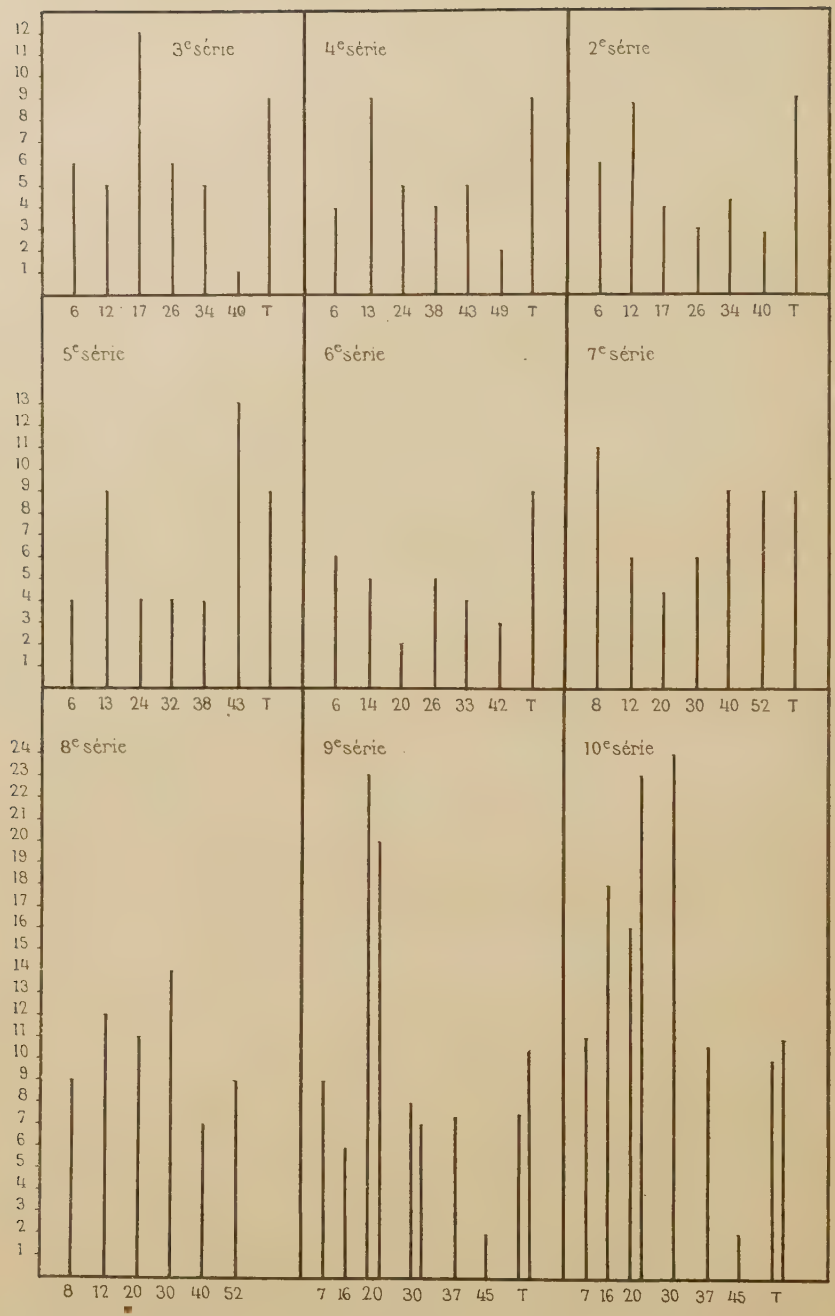
mêmes fluctuations dans la précocité et le retard des réactions. L'accélération si marquée constatée chez les derniers cobayes est-elle définitive, ou bien un nouveau retard devra-t-il lui faire suite ? La série suivante nous donnera la réponse à cette question.

Onzième série. — Cette série présente l'intérêt de ne comprendre que des cobayes vaccinés depuis un mois et plus, la majorité depuis plus de quatre jusqu'à sept mois, ce qui nous permet justement de nous renseigner sur l'évolution de la réaction de réinfection à une si longue distance de la première inoculation.

Comme il s'agissait en général d'animaux réagissant encore fortement à la tuberculine, il était encore plus intéressant de voir si la réaction de réinfection allait prendre le type accéléré ou retardé, ou ne plus être modifiée et se rapprocher de la manière de réagir des témoins. Or, c'est justement la seconde manière de réagir, la réaction retardée, que nous rencontrons chez la plupart de nos cobayes, et cela est constant chez presque tous, à l'exception de ceux vaccinés par voie buccale depuis deux mois, ainsi que chez un cobaye vacciné par voie sous-cutanée depuis un mois seulement, chez lesquels la réaction apparaît dans le même délai que chez les témoins (vingt et un jours). Pour tous les autres, la réaction est remarquablement retardée, atteignant des retards jusqu'à soixante-douze, quatre-vingts, quatre-vingt-quatre jours.

Au début de l'immunisation, nous avions rencontré cette même tendance de la lésion de réinfection au retard, alternant à cette époque, il est vrai, avec la tendance à l'accélération jusqu'au moment où la sensibilisation du cobaye infecté, atteignant son maximum du fait de la progression de l'infection, l'accélération se manifeste nettement et définitivement, et cela même pour les plus petites doses (1/10.000e de milligramme).

Mais, chez des animaux non « infectés » avec des bacilles virulents, mais « vaccinés » avec une souche de bacilles atténués, le B. C. G. par exemple, chez lesquels nous avons la possibilité de laisser se développer et de suivre ce que va devenir et comment va se manifester à la longue l'immunité sans être gêné dans notre observation par toutes les modifications dues au progrès de l'infection et à l'évolution des lésions, nous voyons les animaux réagir différemment. En effet, nous constatons qu'au fur et à mesure que nous nous éloignons du moment de la vaccination et à partir d'un certain délai, l'accélération de la réaction de réinfection ne se produit plus.



En abcisse est indiqué le nombre de jours après lequel a été pratiquée la réinfection; en ordonnée, le nombre de jours après lequel est apparue la réaction au lieu de réinfection.

Est-ce à dire que toute modification de l'organisme due à la vaccination, que toute allergie (dans le sens primitif de réaction modifiée) a disparu et que l'animal est redevenu pareil à l'animal neuf ? Non, car, dans ce cas-là, la réaction à la réinfection devrait se traduire dans le délai normal que nous avons rencontré chez les témoins ; or, ce n'est pas ce qui se produit, car la réaction apparaît avec un retard de plus en plus marqué et qui, cette fois-ci, semble permanent et définitif, puisque entre quatre à sept mois, jamais nous ne l'avons vu alterner avec une réaction accélérée. Il ne s'agit donc plus ici de fluctuations, comme pour la première période d'établissement de l'immunité, mais d'un état bien établi et fixé.

DISCUSSION

Nous avons reproduit sous forme de graphique les fluctuations de la période initiale de l'immunisation ; on y voit clairement que, quelle que fût la voie d'immunisation, aussi bien que la dose de réinfection, le phénomène est constant. Nous en avons analysé et relevé les caractères particuliers pour chaque série prise à part. Nous n'avons pas représenté sur notre graphique la dernière période, où le retard de la réaction est constant et permanent, le fait étant trop simple et l'exposition ne s'en trouvant pas sensiblement éclairée du fait de la présentation graphique.

Comment faut-il maintenant interpréter cette fluctuation, aboutissant d'abord à une accélération très nette de la réaction, pour faire place plus tard à ce retard, qui semble avoir un caractère définitif, ou en tous cas de longue durée.

Pour ce qui est de l'accélération de la réaction, elle est un fait trop connu et d'interprétation plus facile, rentrant dans la catégorie bien étudiée des réactions cellulaires allergiques d'hypersensibilité. Il est plus malaisé de faire une place, dans cette classification, au retard de la réaction. S'il s'agissait simplement d'une alternance entre des réactions plus ou moins accélérées, ou encore entre des réactions accélérées et des réactions à délai normal, on pourrait facilement supposer que, jusqu'au moment de l'établissement définitif de l'état allergique, il pourrait y avoir des différences individuelles de cobaye à cobaye, cet état s'établissant chez les uns plus précocement que chez d'autres. Mais, en réalité, il n'en est pas ainsi, car, même avec des doses moyennes et plus encore avec des doses petites et minimes, nous

voyons qu'il y a alternance entre réactions accélérées et réactions *retardées*, mais pas normales ou seulement moins accélérées. Cette alternance est trop constante, pour chacune des dix séries que nous avons étudiées, pour pouvoir être mise sur le compte des différences individuelles. La tendance au retard de la réaction de réinfection doit bien être considérée comme une modalité en soi, à caractère et signification propres, d'autant plus qu'à partir d'un certain moment, dans les réinfections très tardives, nous la voyons devenir la règle et prendre des proportions tout à fait considérables.

D'autre part, on peut se rendre compte que, tout en étant plus marqué pour les réinfections à doses petites et minimes, le retard de la réaction n'est pas le propre de ces doses seulement, puisqu'on le retrouve aussi bien au cours des réinfections à doses moyennes, et que, même dans certaines conditions (animaux vaccinés avec 1/10^{e} de milligramme de bacilles morts) la réinfection avec la dose de 1/100^{e} de milligramme détermine une réaction dès le début et très nettement retardée.

Enfin il ne faut pas croire non plus que la réaction retardée est la manière obligatoire de réagir à la réinfection à petites doses. Aussi petites que fussent celles-ci, nous avons vu que le retard des réactions alterne avec des tendances à l'accélération et qu'il arrive toujours un moment, plus ou moins précoce, mais généralement vers la même époque pour toutes les séries que nous avons étudiées, où la réaction est nettement accélérée, même pour les plus petites doses employées (1/10.000^{e} de milligramme).

Ceci ne veut pas dire qu'avec l'établissement de cette accélération nette la tendance au retard a disparu ; au contraire, elle persiste et même augmente, tout en étant passagèrement masquée par l'accélération de la réaction. Mais, si nous suivons nos animaux un temps suffisamment long, et cela l'inoculation d'un bacille atténué comme le B. C. G. nous le permettra, nous voyons arriver un moment où les cobayes réagissent à la réinfection par une réaction retardée, beaucoup plus même qu'au début de la période d'établissement de l'immunité, et que cette manière de réagir est maintenant la règle, puisque nous n'avons plus rencontré qu'elle chez tous les cobayes réinfectés entre le troisième et le septième mois.

On ne peut, en tenant compte de tous ces faits, échapper à l'impression qu'il s'agit là d'une manifestation indépendante et différente de la réaction allergique comprise dans le sens d'une accélération dans l'apparition de la lésion de réinfection et suivant

une évolution parallèle avec celle-ci, mais selon un rythme bien à soi. De ce fait, jusqu'à un certain moment, nous avons des fluctuations et alternances dues à ce que tantôt l'un, tantôt l'autre des processus prend le dessus jusqu'au moment où l'intensité de l'un domine nettement le tableau, son évolution ayant été plus rapide et le maximum plus vite atteint. Mais tandis que, dans certaines conditions, au cours des infections avec des bacilles atténués et probablement en même temps que la régression des lésions, il se produit une atténuation de cette hypersensibilité allergique, la tendance au retard de la réaction persiste longtemps encore et même va augmentant en intensité.

Notre impression est que, par le fait de l'infection tuberculeuse, il se produit deux ordres de modifications de l'organisme infecté. D'un côté, nous assistons à une sensibilisation de cet organisme, sensibilisation que nous pouvons assez bien rapprocher des phénomènes anaphylactiques et à laquelle nous attribuons toutes les réactions locales vasculaires et cellulaires connues sous le nom de réactions allergiques et aboutissant, dans leur expression complète et la plus intense, au phénomène de Koch. Il y a, dans les différents processus physiologiques participant à ce genre de réaction, toute une série d'éléments que l'on peut considérer comme participant à la défense, et qui aurait d'autant plus cette signification s'il s'agissait d'autres espèces microbiennes que le bacille de Koch. Mais, vis-à-vis de celui-ci, la plus ou moins grande richesse de l'exsudat, l'abondance même des leucocytes, sont des moyens de défense encore bien insuffisants, et il nous faut arriver à l'élimination brutale du tissu infecté avec, en même temps, le bacille infectant, pour assister à une réelle et efficace défense de l'organisme.

D'un autre côté cependant, l'organisme se modifie dans le sens d'une insensibilité progressive à l'action du bacille, d'une tolérance pour celui-ci qui se traduit par le retard de plus en plus grand qu'il met à déterminer des lésions, par les proportions toujours moindres de celles-ci, et par la marche plus lente de la généralisation. Ceci est du moins le résultat visible de cette modification.

Que l'inaptitude progressive à déterminer des lésions soit le fait de la tolérance croissante ou bien aussi de la faculté acquise par l'organisme de fixer, d'immobiliser plutôt sur place les bacilles, nous ne saurions en décider. Nos observations ont eu trait seulement aux manifestations macroscopiques, à la constitution visible et palpable de la lésion locale. Nous n'excluons

pas pour cela la possibilité qu'une réaction cellulaire plus précoce ait eu lieu qui ait fixé, immobilisé les bacilles en les englobant dans des formations folliculaires. Mais, de toutes façons, ces réactions ont été dépourvues de tout caractère inflammatoire aigu, et leur effet a été de retarder de beaucoup l'action pathogène des bacilles et l'apparition de lésions visibles.

Il est aussi possible que la lyse des bacilles intervienne et, d'une réinfection à l'autre, mette l'organisme en présence d'une dose toujours moindre de bacilles. Contesté par les uns, admis par d'autres, récemment encore par Paraf (16), ce mécanisme de défense nous semble possible, mais nos expériences ne nous permettent de rien en conclure.

Or, comme ce genre de réaction a généralement coïncidé avec des lésions moindres, et cela même à une époque où la première manière de réagir, par réaction accélérée, avait complètement disparu, qu'avec ces lésions moindres allait de pair une tendance plus marquée à la guérison des lésions, tout cela nous fait considérer ces phénomènes de tolérance, de réactions moindres et retardées, comme des manifestations de l'état d'immunité de l'organisme, puisque, en somme, il traduisent justement ce que nous convenons généralement d'appeler par ce terme : incapacité ou capacité moindre de l'agent pathogène de déterminer des lésions dans l'organisme infecté.

Quant aux réactions accélérées, abcès précoces et en général phénomènes inflammatoires aigus, propres à l'état d'allergie, nous ne pouvons leur attribuer qu'un rôle bien limité dans le mécanisme de l'immunité. Qu'il s'agisse là de réaction d'anticorps antigènes, ou bien simplement d'augmentation de la phagocytose, ce sont des mécanismes qui, pour toute autre infection, pourraient représenter des moyens efficaces de défense, mais qui n'ont pas la même efficacité vis-à-vis du bacille de Koch. La simple réaction inflammatoire aiguë, exsudat, leucocytose, ne peut jamais à elle seule venir à bout de l'infection : c'est ou bien par la tolérance absolue vis-à-vis du bacille, ou bien par la constitution du follicule, que l'organisme arrive à enrayer la marche de l'infection, et c'est seulement sur le bacille ainsi fixé qu'à la longue s'exercent les moyens de défense et de destruction de l'organisme, quand celui-ci ne se limite pas à l'immobilisation et l'isolement du bacille, même vivant.

Enfin le fait que l'état allergique est passager, tandis que la résistance acquise de l'organisme continue à se manifester et qu'à ce moment la réaction à réinfection se traduit précisément par

le retard dans l'apparition de la lésion locale, est une raison de plus qui nous fait incliner vers l'opinion que c'est dans des phénomènes de cette nature : tolérance envers les bacilles, aptitude à les fixer et à les maintenir le plus longtemps possible inactifs et inoffensifs pour l'organisme, qu'il faut voir le mécanisme de l'immunité dans la tuberculose. Il est possible que ce mécanisme soit ensuite complété par une plus précoce destruction des bacilles au sein des formations folliculaires, comme le laisseraient supposer des recherches récentes de Tymofeievsky et Benevolenskaia (17) sur des cultures de tissus tuberculeux ; et, quoique nos recherches ne nous eussent pas permis de contrôler ce fait, nos résultats ne nous semblent pas être en contradiction avec cette hypothèse.

Il serait prématuré de vouloir conclure de nos expériences quels sont les facteurs déterminant l'un ou l'autre de ces états, ou en tous cas favorisant l'apparition plus précoce et la manifestation plus intense de l'un ou de l'autre. Pourtant, nous en pouvons tirer quelques indications desquelles nous pouvons en premier lieu conclure que ces deux états sont différemment influencés et par la nature et la dose de la primo-infection, et par la dose de réinfection. Ainsi il ressort très nettement de nos expériences que les infections à bacilles virulents, ainsi que celles à bacilles atténués ou morts à fortes doses, déterminent l'apparition précoce de l'état allergique, qui arrive bientôt à masquer complètement les réactions d'immunité ; au contraire, l'infection à petites doses de bacilles morts crée un état allergique très tardif et faible, et nous assistons en ce cas à la manifestation presque exclusive des réactions d'immunité. Enfin, lorsque la primo-inoculation ayant eu lieu avec des bacilles atténués et que l'on peut suffisamment longtemps suivre les animaux, on voit que l'état allergique est surtout le propre des premiers temps suivant l'infection, qu'il s'atténue ensuite beaucoup et que les réactions d'immunité reprennent la première place.

En ce qui concerne la dose de réinfection, nous rencontrons le fait connu, d'ailleurs, du rapport direct entre l'intensité de la réaction allergique et la dose injectée. Si la dose est suffisamment petite, on assiste pendant une période assez longue à l'existence des réactions d'immunité seulement, jusqu'au moment où l'état allergique atteint quand même une telle intensité que la réaction allergique s'impose seule à l'attention. L'absence complète de réactions allergiques pour les réinfections à petites doses est un fait déjà depuis longtemps signalé par Römer qui, lui

aussi, considérait que dans ce cas il y avait manifestation de l'immunité seule. Ce que nos recherches ont apporté de nouveau, c'est la notion que, pour aboutir à cet état d'immunité, l'organisme parcourt une évolution, une série de transformations physiologiques indépendantes et différentes de celles qui mènent à l'état allergique.

Enfin il ressort nettement de nos expériences que, dans l'infection expérimentale à bacilles virulents, la tuberculose évolutive progressive que l'on provoque détermine rapidement un état d'allergie augmentant en rapport avec l'extension des lésions et qui permet à peine, au début de l'infection, de saisir la tendance seulement à se manifester des réactions d'immunité. Plus tard, l'intensité des phénomènes allergiques est telle que les réactions d'immunité sont complètement masquées, ou bien, lorsqu'on peut les mettre en évidence, comme lors de l'injection des doses minimes, on constate seulement l'existence de l'immunité à l'absence totale de lésions, sans cependant la pouvoir relier avec des états précédents et se rendre compte des mécanismes qui entrent en jeu pour aboutir à ce résultat.

C'est aux infections par bacilles atténués qu'il faut s'adresser pour suivre, une fois la période allergique passée ou en voie de déclin, l'évolution de réactions d'immunité. En étudiant le mécanisme de ces états d'immunité même incomplets, on se rend compte que c'est par un tout autre mécanisme que celui des réactions allergiques que celle-ci est réalisée, que la voie qui mène à elle est différente de celle qui mène à ces dernières, qu'immunité et allergie dans le sens limité d'hypersensibilité sont deux états différents et non deux aspects d'un même état, qu'ils évoluent parallèlement jusqu'à un certain point, sans se suivre cependant et se superposer comme intensité. Tout en se confondant chez l'animal tuberculeux jusqu'à la mort de celui-ci, leurs voies se séparent chez l'animal vacciné, chez lequel avec le temps l'état allergique s'atténue, tandis que l'immunité persiste.

Nous ne sommes donc justifiés par rien à vouloir identifier les réactions allergiques avec l'état d'immunité et surtout en faire un témoin *sine qua non* de ce dernier, ainsi qu'une unité de mesure de son intensité. Si, pour la tuberculose évolutive, leur coexistence est la règle, l'immunité conférée par les bacilles atténués persiste longtemps après que l'état allergique s'est atténué et prouve par cela même son indépendance et la différence de nature.

Le fait n'est pas seulement d'importance théorique, mais aussi pratique, puisque, ainsi que nous l'avons vu, l'un et l'autre de ces

deux ordres de phénomènes sont influencés par des facteurs différents. Comme c'est justement la recherche des facteurs les plus propres à déterminer l'immunité sans provoquer un état allergique trop marqué qui constitue le problème de l'immunisation artificielle, la connaissance plus approfondie de ces facteurs permettra peut-être d'apporter de nouvelles précisions dans l'emploi des méthodes déjà existantes de vaccination antituberculeuse.

CONCLUSIONS

1° L'infection tuberculeuse détermine dans l'organisme du cobaye des modifications se traduisant, lors de la réinfection avec des bacilles, par deux ordres de processus physiologiques.

Les uns, qui consistent en une réactivité exagérée ayant pour effet une accélération de la réaction à la réinfection apparaissant avec un caractère inflammatoire aigu et la tendance à la nécrose et à l'escarre ; les autres se manifestant par une tolérance progressive à l'action des bacilles et par une tendance de plus en plus marquée à les fixer sur place, grâce auxquelles leur aptitude à déterminer des lésions est réduite et le progrès de l'infection dans l'organisme retardé, sinon arrêté.

2° Ces deux ordres de processus évoluent parallèlement comme sens, mais pas comme intensité, et cela jusqu'à un certain moment seulement. Pendant cette période, qui est celle du début de l'infection, on peut voir tantôt l'un, tantôt l'autre, prendre le dessus; la réaction à la réinfection est tantôt accélérée, tantôt retardée.

3° Chez le cobaye « infecté » avec un bacille virulent, les réactions de la première catégorie ou d'hypersensibilité arrivent bientôt à masquer complètement les secondes, et cela jusqu'à la mort de l'animal. Plus bruyantes et seules visibles, comme elles coïncidaient avec l'immunité aux réinfections, elles ont été à tort considérées comme représentant le mécanisme et la signature de celle-ci.

4° Chez l'animal « vacciné », et après un assez long délai, on peut se rendre compte que les deux ordres de phénomènes ont évolué différemment. L'hypersensibilité s'est atténuée, l'animal réagit aux réinfections par une réaction de beaucoup retardée, en même temps que sa résistance augmentée aux réinfections persiste.

5° Nos observations corroborent les observations de Calmette, de Baldwin et Gardner, de Willis, que nous avons citées au cours

de ce travail et qui ont constaté la persistance de l'immunité après disparition de la sensibilité à la tuberculine, de même que nous avons constaté la persistance de la résistance après disparition de la réactivité allergique d'hypersensibilité aux réinfections.

6° Hypersensibilité et immunité ne sont donc pas deux aspects d'un même état, mais bien deux états distincts évoluant chacun pour soi, se traduisant par des mécanismes et processus physiologiques différents. Ils peuvent coexister, et pendant un certain temps il y a parallélisme dans leur évolution, mais celui-ci est passager, et en aucun cas l'immunité ne peut être identifiée à l'hypersensibilité allergique, ni surtout appréciée à l'existence et l'intensité de celle-ci.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bordet (J.). — *Bactériologie, Parasitologie. Infection et immunité.* Bruxelles, M. Lamertin, éditeur, 1927.
2. Calmette (A.). — *L'infection bacillaire et la tuberculose.* Paris, Masson, éditeur, 1928.
3. Krause (A.-K.). — « Studies on tuberculosis immunity. The dissemination of tubercle bacilli in the immune guinea-pigete » (*Am. Rev. of Tuberculosis,* 1926, v. 16, p. 197).
4. Courmont (P.). — « Les bases expérimentales des réactions d'allergie dans la tuberculose » (*Rev. de la Tuberculose,* 1927, v. VIII, p. 145).
5. Baldwin (E.) et Gardner (L.-U.). — « Reinfection in tuberculosis » (*Am. Rev. of Tuberculosis,* 1921, v. V, p. 429).
6. Willis (H.-S.). — « Studies on immunity to tuberculosis. The waning of cutaneous hypersensitiveness to tuberculin and the relation of tuberculo immunity to tuberculoallergy » (*Am. Rev. of Tuberculosis,* 1928, v. XVII, p. 240).
7. Calmette (A.). — *La vaccination préventive contre la tuberculose par le B. C. G.* Paris, Masson, éditeur, 1927.
8. Lange (B.) et Lydtin (K.) — « Experimentelle Untersuchungen am Meerschweinchen u. Kanninchen über die Schuzwirkung der Kultur B. C. G. » (*Zeitschrift f. Tuberkulose,* 1928, v. 50, p. 45).
9. Boquet (A.). — « Sur le bacille de l'entérite paratuberculeuse des bovidés » (*Annales Institut Pasteur,* 1928, v. 42, p. 495).
10. Nasta (M.). — « Recherches sur le rapport entre la sensibilité à la tuberculine et l'immunité » (*C. R. S. B.,* 1928, v. 98, p. 1462).
11. Nasta (M.) et Blechman (M.). — « Contribution à l'étude de l'action des rayons ultra-violets sur la tuberculose expérimentale du cobaye » (*Arch. roumaines de Pathol. expérim.,* 1928, v. 1, p. 353).
12. Rist (E.), Léon-Kindberg (M.) et Rolland (J.). — « Recherches sur la réinfection tuberculeuse intrapéritonéale » (*Annales de Médecine,* 1914, v. 1, pp. 310 et 377).
13. Nasta (M.) et Ionesco (V.). — « Recherches sur la réinfection intrapéritonéale du cobaye tuberculeux » (*C. R. S. B.,* 1924, v. 91, pp. 506, 508, 509).

14. Nasta (M.). — « Sur la dissociation de l'immunité et de l'hypersensibilité dans la tuberculose expérimentale du cobaye » (*C. R. S. B.*, 1927, v. 96, p. 781).

15. Boquet (A.) et Nègre (L.) — « Sur l'hypersensibilité aux tuberculines et aux bacilles de Koch dans la tuberculose expérimentale » (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1926, v. 40, p. 11).

16. Paraf (J.). — « L'immunité et les réactions de bactériolyse cellulaire dans la tuberculose » (*Presse Médicale*, 1928, n° 57, p. 898).

17. Timofejewski et Benewolenskaya. — « Zur Frage über die Reaktion pathologischer Leukocytenformen des Menschenblutes « in vitro » auf Tuberkelbazillen » (*Virchov's Archiv*, 1927, v. 264, p. 605).

ERRATUM

Dans le mémoire Nasta et Blechmann du n° 3, page 377, ligne 22, au lieu de « hyperleucocytose avec polynucléose marquée », lire : « leucocytose moindre, et un certain degré de lymphocytose, en comparaison surtout avec le sang du cobaye tuberculeux témoin, chez lequel une forte leucocytose est accompagnée d"une polynucléose marquée ».

ÉTUDES SUR L'IMMUNITÉ DANS LE PALUDISME

(Communication préliminaire)

par

M. CIUCA, L. BALLIF et M. VIERU

(Travail du Laboratoire d'hygiène de la Faculté de médecine de Jassy et de l'Hôpital de maladies mentales de Socola.)

Le nombre de personnes qui jouissent d'une vraie *immunité naturelle* vis-à-vis du paludisme est excessivement réduit. Ce sont les essais de malariothérapie dans la paralysie générale qui apportent de nouvelles contributions à l'étude de l'immunité acquise dans cette maladie. La riche documentation du traité de Gerstmann ne donne que 5 % à 6 % d'insuccès à la suite d'une inoculation de sang virulent. Ce pourcentage diminue encore si l'on répète les inoculations. Kirschbaum ne compte que 10 % de résistants après une première inoculation ; réinoculés plusieurs fois, 50 % des résistants prennent l'infection. Kirschner, Muhlens et Kirschbaum considèrent comme des cas isolés très rares les personnes qui ne prennent pas l'infection malarique après quatre à six inoculations de sang virulent, mais ils constatent une diminution de l'intensité de l'infection chez les individus guéris qui reçoivent une nouvelle injection de sang virulent.

Les conditions d'infection et d'immunité sont probablement tout autres dans *les pays malariques,* où l'on trouve un pourcentage plus élevé d'individus résistant à l'infection malarique naturelle. Van Loon et Kirschner, dans les Indes Néerlandaises, constatent que les *indigènes* sont relativement immuns à l'infection malarique expérimentale. Les frères Sergent trouvent une résistance assez marquée des oiseaux porteurs d'infection chronique à « *proteosoma* » à une nouvelle inoculation de sang virulent. En Roumanie, les essais de malariothérapie de C. Ionesco donnent un pourcentage assez important de résistants à la fièvre quarte ou tierce bénigne expérimentales.

Nos essais d'infection malarique expérimentale, commencés en janvier 1926, apportent à l'étude de l'immunité dans les pays à endémie malarique un nombre de 297 observations de malades aliénés soumis à ce traitement.

Des groupes de deux à seize paralytiques ou malades atteints d'autres affections nerveuses étaient donc inoculés dans des conditions expérimentales pareilles, avec un *même passage* de sang virulent malarique (premier au vingtième passage de tierce bénigne, premier au troisième passage de quarte, un premier passage de tropica) après avoir préalablement cherché les antécédents malariques (infection spontanée ou expérimentale) de chaque individu.

On inoculait le sang virulent : à voie sous-cutanée + intramusculaire, à voie intramusculaire, à voie endoveineuse ou intrarachidienne.

Les personnes appartenant au même groupe recevaient, bien entendu, la même quantité de sang virulent par la même voie (voir figure 3).

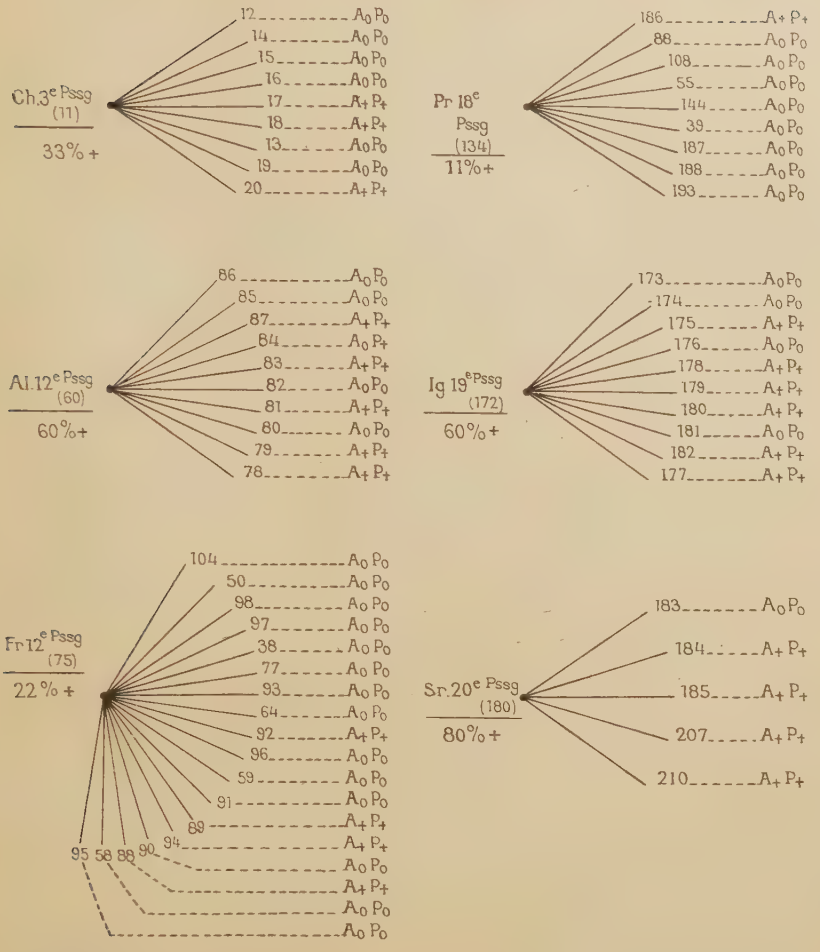
La composition de chaque groupe était faite dans la mesure des possibilités, de manière à inoculer dans les mêmes conditions : des personnes sans antécédents malariques, des anciens malades guéris spontanément, des malariques traités, des individus résistant soit spontanément, soit à la suite d'une ou plusieurs inoculations de sang virulent.

On pratiquait journellement l'examen du sang et l'on marquait l'apparition de tout mouvement fébrile et des accès.

Les malades qui ne prenaient pas l'infection (absence de phénomènes morbides et de parasites dans la circulation générale) étaient réinoculés plusieurs fois, soit avec la même souche de parasite, soit avec une autre.

La plupart des malades résistant à des *inoculations répétées de tierce bénigne* étaient inoculés avec une souche de quarte. Nous n'avons utilisé le sang virulent de tropica que pour contrôler l'état d'immunité des personnes qui avaient résisté à une infection de tierce bénigne et de quarte.

Nos constatations sont unanimes à montrer que, dans notre pays, qui compte un nombre approximatif de 900.000 malariques, la résistance des individus à l'infection expérimentale n'est pas un fait si rare. En inoculant du sang parasité frais de tierce bénigne, nous obtenons en général : *58,5 % de résultats positifs par voie sous-cutanée et intramusculaire, 54,8 % par voie intramusculaire, 40 % par voie endoveineuse et 43 % par voie intrarachi-*



La figure 3 nous explique encore mieux les données du tableau 2. Cette figure représente les dispositifs d'inoculation et les résultats obtenus avec le sang virulent de 6 *donneurs* appartenant : 1 à un troisième passage, 2 au douzième passage, 1 à un dix-huitième passage, 1 à un dix-neuvième passage et 1 à un vingtième passage.

dienne ; la moyenne étant de 54 % de résultats positifs (accès et parasites dans la circulation générale).

Nous sommes donc assez loin des pourcentages d'inoculations positives cités dans la littérature des pays non malariques.

La quantité de sang virulent (0.5-10 cc.), ainsi que la voie d'inoculation, ne constituent pas des facteurs de variation quant à l'effectivité de l'inoculation.

Nous n'avons pas constaté non plus une diminution de la virulence au cours des vingt passages subis par notre souche de tierce bénigne ; le pourcentage variable de résultats positifs est déterminé par la réceptivité variable des hommes du même groupe, en rapport probablement avec leurs antécédents malariques (voir tableau n° II et figure n° 3).

En réinoculant une partie *des individus résistant* à une première inoculation de tierce bénigne, nous avons constaté *que 32 sur 33 malades sont immuns* pour cette forme de maladie (voir tableau n° I, malades Luca [38], P. D. [37], Urs. [77], etc., etc.).

Une troisième inoculation de sang virulent faite sur quinze malades résistant à deux inoculations de tierce reste également négative (voir tableau n° I, malades Cz. [71], Op. S. [104], etc., etc.).

L'autopsie de huit de ces cas nous a permis de faire un examen minutieux des frottis de la rate, de la moelle osseuse et du foie. *Nous n'avons jamais trouvé ni parasites dans les organes internes, ni des lésions chroniques de malaria.*

Nous avons pu également nous rendre compte de l'état *d'immunité acquise* à la suite d'inoculations répétées (voir tableau n° I, malades Rus. [28], Vr. [50], etc., etc.).

Après une première infection expérimentale suivie de guérison spontanée ou d'un traitement intensif, 7 (30 %) sur 23 cas seulement sont réceptifs à une seconde inoculation de tierce bénigne faite plusieurs mois plus tard (voir tableau n° I, malades Sg. [49], Ch. [11], etc., etc.).

Aucun de ces sept malades débarrassés de leur seconde infection, soit spontanément, soit à la suite d'un traitement, n'a pris l'infection après une troisième inoculation de sang virulent de tierce bénigne (voir tableau n° I, malades Ch. [11], Ostr. [39], etc., etc.).

Les témoins de cette immunité sont, dans un grand nombre de cas, les malades ayant fait une première infection et qui, à la suite d'une deuxième inoculation, ne présentent qu'un *parasitisme parfois assez intense sans accès ou autres manifestations morbides* (voir tableau n° 1, malade Chir. [46]). Après une guérison spontanée, ces mêmes malades montrent à l'occasion d'une troisième inoculation un véritable état d'immunité (voir tableau n° I, malade Cr. [71]).

Nous citons cependant deux autres malades qui ont pris trois fois la tierce bénigne ; ces inoculations étaient espacées de un à

deux ans. Dans ces deux cas, on avait fait subir aux malades un traitement intensif après chaque infection (voir tableau n° I, malade Swrt. [79]).

Dans le but d'établir l'état d'immunisation des malades résistant à des inoculations répétées de Tertiana vis-à-vis des deux autres types de parasites, nous avons commencé par soumettre nos malades à une ou plusieurs preuves considérées comme effectives pour la mobilisation du parasitisme latent (lait, adrénaline, injection intraveineuse d'émulsion tuée de typhique, etc., etc.).

Des individus tout à fait résistants à l'inoculation de Tertiana ont été donc inoculés avec 4 centimètres cubes de sang virulent de Quartana (premier au troisième passage) à voie sous-cutanée + intramusculaire. Nous avons inoculé dans des conditions tout à fait égales comme témoins, des malades qui n'avaient jamais reçu du sang virulent et des individus qui avaient pris une première tierce bénigne (guéris spontanément ou traités).

L'examen journalier du sang et l'observation suivie des malades nous ont permis tout d'abord de fixer *la durée de l'incubation pour la « quarte »*, qui est infiniment plus prolongée que celle de la Tertiana. *Sur 36 personnes inoculées, 23 (64 %) ont pris l'infection. L'incubation a varié de vingt à soixante jours ;* le nombre de cas à incubation de moins de trente jours était minime.

Dans ces conditions, *ont pris la fièvre quarte* : 4 sur 5 malades (80 %) inoculés pour la première fois ; 5 sur 6 malades (83 %) réceptifs pour la tierce bénigne (tableau n° I, malades Iț. [197], V. [139] ; 6 sur 18 (33 %) malades résistant à une première inoculation de tierce (voir tableau n° I, malade Cost. [130] ; 2 sur 6 malades (33 %) résistant à deux inoculations de tierce (voir tableau n° I, malades Ma. [13], Acib. [15], Ru. [36], etc.) ; 1 malade qui avait résisté à trois inoculations de tierce (voir tableau n° I, malade Gher. [52]).

En résumé, *il y a un pourcentage beaucoup plus élevé de réceptifs pour la fièvre quarte expérimentale que pour la tierce bénigne.* Nous ajoutons à cette occasion que le pourcentage de Quartana (infection naturelle), en Roumanie, ne dépasse généralement pas 6 % du nombre total des cas de malaria à examen positif du sang. Une ou plusieurs inoculations expérimentales de tierce bénigne confèrent une certaine résistance pour la fièvre quarte (voir tableau n° I, malades Seg. [49], avec parasites de quarte dans la circulation et sans accès) ; Sor. [87].

Légende : Sp — infection spontanée. Trc — tierce bénigne. Q — quarte. Trp — tropica. A — accès. P — parasites dans la circulation.

N° I. — Tableau résu
subies par 90 de nos m
sont marqués

Ad. 2	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Pr. 27	Trc. A+..P+ Trc. A+..P+	Avoi. 42	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Stef. 57	Trc. Ac Trc. Ac
Săv. 3	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trp. A+..P+	Rus. 28	Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. A+..P+	Ciob. 43	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Barb. 58	Trc. Ac Trc. Ac A+ Trp +. L Ac
Ro. 5	Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po	Os. 29	Trc. Ao...P+ Trc. Ao...P+	Sand. 45	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trp. A+..P+	Cl. 59	Trc. Ac Trc. Ac Trc. Ac
Sip. 9	Trc. Ao...Po Trc. Ao.. Po	Ba. 31	Trc. Ao...Po Q. Ao...Po Trp. A+..P+	Chir. 46	Trc. A+..P+ Trc. Ao...P+	AL. 50	Trc. A+ Trc. Ac
Bu. 10	Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po Q. A+..P+	Oa. 32	Trc. A+..P+ Trc. A+..P+	Bl. 47	Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po	Plut. 51	Trc. Ac Trc. Ac
Chi. 11	Trc. A+. P+ Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po	Au. 33	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. Ao...Po Trp. A+..P+	Mc. 48	Trc. ao...Po Trc. A+..P+	Mr. 62	Trc. Ac Trc. Ac Trc. Ac
Di. 12	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trp. A+..P+	Pet. 34	Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. A+..P+ Q. A+..P+	Seg. 49	Trc. A+..P+ Trc. A+..P+ Q. Ao....P+	Eft. 64	Trc. A+ Trc. Ac Q. A+
Ma. 13	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. Ao...Po Trp. Ao...P+	Tp. 35	Trc. Ao...Po Q. A+..P+ Trp. Ao...Po	Vr. 50	Trc. A +..P+ Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Arh. 65	Trc. Ac Trc.+T Ac
Cr. 14	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Ru. 36	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. A+..P+	Dr. 51	Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po	Andr. 66	Trc. Ac Trc. Ac
Acib. 16	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. A+..P+ Q. A+..P+	P.u.D. 37	Trc. Ao.. Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Gher. 52	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. A+..P+	Panc. 67	Trc. Ac Trc. Ac
Ef. 16	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trp. A+ .P+	Luca. 88	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trp. A+..P+	Stan. 54	Trc. Ao...Po Q. Ao...Po Q. Ao...Po Trp. A+..P+	uc. 69	Trc. Ac Trc. A+
Pas. 18	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc+Trp... A+..P+ (Trp)	Ostr. 39	Trc. A+..P+ Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po Q. A+..P+	Bab. 55	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. A+..P+ Trc. Ao...Po Q. Ao. .P+	Ol. 70	Trc. Ac Trc. Ac Trp. A+

inoculations répétées
résultats des inoculations
que inoculation.

Note. — Ordre des inoculations de haut en bas. — Le malade Rad. 191 porteur d'une infection spontanée de tierce bénigne.

. 71	Trc. Ao.. P+ Trc. Ao.. Po Trc. Ao...Po Trp. A+..P+	Vas . 90	Trc. Ao...Po Q. A+..P+	Mor 115	Trc. Ao.. Po Trc. Ao.. Po Trc. Ao.. Po Trc. Ao.. Po	Tom. I. 188	Trc Ao.. Po Q. Ao . Po				
iiq. 73	Trc. Ao...Po Q. Ao...Po Trp. A+..P+	Chet. 93	Trc. A+..P+ Trc. A+..P+	Jord. 117	Trc. Ao.. Po Trc. Ao.. P+	Rad. D. 191	Trc. (Sp.) A+ P+ Trc. Ao.. Po Q. A+. P+				
. 74	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Dob. 96	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trp.+Trc. A+P+(Trp)	Cost.Bo 130	Trc. Ao...Po Q. A+. P+	Ax 190	Trc. Ao.. Po Trc. Ao.. Po				
inc. 75	Trc. A+..P+ Q. A+..P+	St. Pc. 97	Trc. Ao.. Po Trc. Ao.. Po Trp.+Trc. Ao...Po	Gug. 132	Trc. Ao.. Po Trc. Ao...Po Q. Ao . Po	Vos. I. 193	Trc. Ao...Po Q. Ao.. Po				
zd. 76	Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po	Tud. 98	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao ..Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trp. A+..P+ Q. A+..P+	Heut. 133	Trc. A+. P+ Q. A+. P+	Ghert. 196	Trc. A+. P+ Trc. Ao.. Po				
77	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Seid.101	Trc. A+..P+ Trc.+Trp. A+P+(Trp	Grăd. 136	Trc. Ao.. Po Trc. Ao.. Po	It. 197	Trc. A+. P+ Q. A+. P+				
or . 9	Trc. A+..P+ Trc. A+..P+ Trc. A+..P+ Q. A+..P+	Mar.102	Trc. Ao...P+ Q. A+..P+ Q. A+..P+	Vasil. 139	Trc. A+. P+ Q. A+. P+						
80	Trc. Ao.,.Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. Ao...Po	Nov.103	Trc. Ao. .Po Trc. Ao...Po Q. Ao...Po	Botez. 144	Trc. Ao.. Po Q. Ao.. Po Trp. A+. P+						
84	Trc. Ao...P+ Trc. Ao...Po Q. A+ .P+	Op. St. 104	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Ign. 172	Trc. A+. P+ Trc. A+. P+						
85	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po	Arb. 108	Trc. Ao...Po Trc. Ao...Po Q. Ao...Po	I Stoin. 160	Q. (Sp) A+. P+ Trc. Ao.. Po						
87	Trc. A+..P+ Q. Ao...Po	Cond. 110	Trc. Ao...Po Trc. Ao.. Po Trc. Ao...Po Q. Ao...Po	Rus. F. 181	Trc. Ao.. Po Trc. Ao . P+						
88	Trc. A+..P+ Trc. Ao...Po Q. A+..P+	Hald. 113	Trc. Ao...Po Q. A+..P+ Q. A+..P+	Lăcăt 187	Trc. A+. P+ Trc. A+. P+ Q. A+. P+						

Le tableau n° II montre clairement que les variations du pourcentage des résul positifs ne sont pas déterminés par une diminution de la virulence au cours des passa Les donneurs d'un même passage donnent des pourcentages différents de résul positifs en rapport avec la résistance variée des individus inoculés.

Passage	Numéro du donneur	Nombre des individus inoculés	Résultats positifs	Pourcentag d'infectio positives
I	2	4	3	75 %
II	5	5	1	20 %
II	4	2	2	100 %
III	11	9	3	33 %
IV	13	1	0	0 %
IV	18	1	1	100 %
IV	20	5	4	80 %
V	26	1	1	100 %
V	24	1	0	0 %
V	22	1	1	100 %
VI	27	1	1	100 %
VII	41	4	1	25 %
VII	29	3	1	33 %
VIII	32	5	1	20 %
VIII	44	3	1	33 %
IX	46	4	4	100 %
IX	34	2	1	50 %
X	49	7	3	42 %
X	64	4	0	0 %
X	50	9	3	33 %
XI	69	1	1	100 %

Note. — D'après nos observations, le pourcentage général des inoculations positives — accès parasites dans la circulation générale — est de 54 %, le pourcentage des cas avec parasites, s la circulation, avec ou sans succès, étant de 66 %.

Passage	Numéro du donneur	Nombre des individus inoculés	Résultats positifs	Pourcentage d'infections positives
XI	68	16	3	18 %
XI	53	5	1	20 %
XI	11bis	3	0	0 %
XII	39	1	1	100 %
XII	75	18	4	22 %
XII	60	10	6	60 %
XIII	87	5	0	0 %
XIII	89	2	2	100 %
XIII	94	5	0	0 %
XIV	100	4	3	75 %
XIV	99	6	1	16 %
XV	112	8	3	37 %
XVI	120	6	3	50 %
XVI	126	3	2	66 %
XVII	121	9	2	22 %
XVII	122	8	2	25 %
XVII	28	6	4	66 %
XVIII	131	4	1	25 %
XVIII	134	9	1	11 %
XVIII	153	5	2	40 %
XIX	172	10	6	60 %
XX	177	2	0	0 %
XX	180	5	4	80 %

Enfin nous avons voulu nous rendre compte de la *résistance*, vis-à-vis d'une souche de *Tropica*, des personnes qui jouissaient d'une immunité naturelle ou acquise pour la tierce bénigne ou la fièvre quarte ou vis-à-vis des deux types à la fois. Vingt-cinq personnes, répondant aux conditions citées ci-dessus, ont été inoculées avec 4 centimètres cubes de sang virulent de Tropica; 5 malades inoculés pour la première fois servaient de témoins. *75 % de ces personnes ont pris la Tropica après une incubation variant de cinq à trente jours*, avec une moyenne d'incubation de dix-sept jours. Nous n'avons pas constaté de différence sensible entre la réceptivité des témoins et celle des individus présentant une résistance vis-à-vis de la tierce ou de la quarte (voir tableau n° I, Di [12], Ef. [16], Pas. [18], Ba [31], etc., etc.).

CONCLUSIONS

Dans les pays à endémie malarique, il y a un pourcentage assez important d'individus qui présentent une immunité vis-à-vis de l'infection expérimentale de tierce bénigne. Tous les individus résistants ne présentaient pas les symptômes d'une infection chronique.

Nos recherches confirment l'existence d'une immunité acquise à la suite d'une ou plusieurs injections de sang virulent (de la même souche). Les individus présentant une immunité vis-à-vis de la tierce bénigne possèdent également une certaine résistance envers la fièvre quarte.

Ces personnes sont, par contre, tout aussi sensibles pour la Tropica que les témoins.

Il n'y a pas d'immunité croisée entre les trois types du parasite.

TABLE DES MATIÈRES

(TOME I. — 1928)

Recherches sur les réactions d'immunité chez les invertébrés. Premier Mémoire : Réactions d'immunité chez Sipunculus Nudus (24 planches hors texte en couleurs), par I. Cantacuzène 7

Recherches expérimentales sur l'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse, par D. Combiesco 81

Traitement de la malaria par le Stovarsol, par M. Ciuca et I. Alexa 105

Recherches sur la résistance des toxines diphtériques et dysentériques aux différentes concentrations en ions hydrogènes, par Ionesco-Mihaiesti et A. Damboviceanu 115

Sur l'influence du système nerveux et des glandes endocrines sur la teneur en eau des organes et tissus, par C.-I. Parhon, V. Marza et M. Cahane 123

Mouvements du train postérieur provoqués par l'excitation du bout périphérique du vague après section de la moelle dorsale, par D. Danielopolu et R. Radovici 145

Races de méningocoques et sérothérapie antiméningococcique en Roumanie, par I. Nicolau 155

Apparition d'une substance désensibilisante et hypotensive dans l'organisme après blocage du système réticulo-endothélial, par I. Moldovan 167

Recherches sur le titrage du sérum antidysentérique par C. Ionesco-Mihaiesti, D. Combiesco, P. Condrea et G. Calalb 179

Recherches sur les bacilles dysentériques isolés en Roumanie, par G. Calalb 243

Traitement de la scarlatine par le sérum de convalescents, par M. Ciuca, V. Craciunesco et I. Bahov 271

Enquête épidémiologique sur la poliomyélite dans un département contaminé en Roumanie, par I. Longhin et C. Aurian 309

Recherches expérimentales sur l'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse, par D. Combiesco 341

Contributions à l'étude de l'action des rayons ultraviolets sur la tuberculose expérimentale du cobaye, par M. Nasta et M. Blechmann .. 353

Sur l'action anti-anaphylactique de certaines eaux minérales naturelles, par M. Marbé et P. Epureanu 379

Sur la spécificité de la réaction de Dick, par M. Ciuca, I. Balteanu et A. Thoma 415

Recherches sur le titre de la lipase sanguine dans différentes formes de tuberculose, par I. Nicolau et Mlle O. Antinescu 437

Recherches sur le rôle des plaquettes sanguines dans l'immunité. La fonction antixénique des plaquettes (Premier Mémoire), par Cornelia Popesco-Combiesco 453

Recherches sur le signe de la charge électrique des bactéries et des cellules défensives à l'état normal et dans l'immunité. (Premier Mémoire : Bactéries et plaquettes), par Eugénie Soru 485

Nouvelles recherches sur les plaques séniles, par G. Marinesco 503

Rossicotrema Donicum Skrjabin et Lindtrop et sa métacercaire, par I. Ciurea 531

Recherches sur le mécanisme de l'immunité dans la tuberculose, par M. Nasta 541

Etudes sur l'immunité dans le paludisme, par M. Ciuca, L. Ballif et M. Vieru ..... 577.

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

Alexa (I.)	Voir Ciuca (M.).	
Antinescu (O.)	Voir Nicolau (I.).	
Aurian (C.)	Voir Longhin (S.).	
Bahov (I.)	Voir Ciuca (M.).	
Ballif (L.)	Voir Ciuca (M.).	
Balteanu (I.)	Voir Ciuca (M.).	
Blechmann (M.)	Voir Nasta (M.).	
Cahane (M.)	Voir Parhon (C.).	
Calalb (G.)	Recherches sur les bacilles dysentériques isolés en Roumanie	243
Calalb (G.)	Voir Ionesco-Mihaiesti (C.).	
Cantacuzène (I.)	Recherches sur les réactions d'immunité chez les invertébrés. Premier Mémoire : Réactions d'immunité chez Sipunculus Nudus (24 planches)	7
Ciuca (M.) et Alexa (I.)	Traitement de la malaria par le Stovarsol	105
Ciuca (M.), Ballif (I.) et Vieru (M.)	Etudes sur l'immunité dans le paludisme	577
Ciuca (M.), Balteanu (I.) et Thoma (A.)	Sur la spécificité de la réaction de Dick	415
Ciuca (M.), Craciunescu (V.) et Bahov (I.)	Traitement de la scarlatine par le sérum de convalescents	271
Ciurea (I.)	Rossicotrema donicum Skrjabin et Lindtrop et sa métacercaire	531
Combiesco (C.)	Recherches sur le rôle des plaquettes sanguines dans l'immunité. La fonction antixénique des plaquettes (Premier Mémoire)	452
Combiescu (D.)	Recherches expérimentales sur l'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse	81
Combiescu (D.)	Recherches expérimentales sur l'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse	341
Combiescu (D.)	Voir Ionesco-Mihaiesti (C.).	
Condrea (P.)	Voir Ionesco-Mihaiesti (C.).	
Craciunescu (V.)	Voir Ciuca (M.).	

Damboviceanu (A.)	Voir Ionesco-Mihaiesti (C.).	
Danielopolu (D.) et Radovici (R.)	Mouvements du train postérieur provoqués par l'excitation du bout périphérique du vague après section de la moelle dorsale	145
Epureanu (P.)	Voir Marbé (M.).	
Ionesco-Mihaiesti (C.), Combiescu (D.), Condrea (P.) et Calalb (G.)	Recherches sur le titrage du sérum antidysentérique	179
Ionesco-Mihaiesti (C.) et Dambo-viceanu (A.)	Recherches sur la résistance des toxines diphtériques et dysentériques aux différentes concentrations en ions hydrogènes	115
Longhin (S.) et Aurian (C.)	Enquête épidémiologique sur la poliomyélite dans un département contaminé en Roumanie	309
Marbé (M.) et Epureanu (P.)	Sur l'action anti-anaphylactique de certaines eaux minérales naturelles	379
Marinescu (G.)	Nouvelles recherches sur les plaques séniles	503
Marza (V.)	Voir Parhon (C.).	
Moldovan (I.)	Apparition d'une substance désensibilisante et hypotensive dans l'organisme après blocage du système réticulo-endothélial	167
Nicolau (I.)	Races de méningocoques et sérothérapie antiméningococcique en Roumanie	155
Nicolau (I.) et Antinescu (O.)	Recherches sur le titre de la lipase sanguine dans différentes formes de tuberculose	457
Nasta (M.)	Recherches sur le mécanisme de l'immunité dans la tuberculose	541
Nasta (M.) et Blechmann (M.)	Contributions à l'étude de l'action des rayons ultra-violets sur la tuberculose expérimentale	353
Parhon (C.), Marza (V.) et Cahane (M.)	Sur l'influence du système nerveux et des glandes endocrines sur la teneur en eau des organes et tissus	123
Radovici (R.)	Voir Danielopolu (D.).	
Soru (E.)	Recherches sur le signe de la charge électrique des bactéries et des cellules défensives à l'état normal et dans l'immunité (Premier Mémoire : Bactéries et plaquettes).	485
Thoma (A.)	Voir Ciuca (M.).	
Vieru (M.)	Voir Ciuca (M.).	

Le Gérant : J. Caroujat. NIORT. — IMP. TH. MARTIN

EXD.

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

IMP. INST. ENT.
2 0 FEV 1936
Eu. 452

Tome I. — N° 1

Janvier 1928

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Publication périodique trimestrielle

SOMMAIRE DU N° 1

Janvier 1928

MÉMOIRES ORIGINAUX

J. CANTACUZÈNE. — *Recherches sur les réactions d'immunité chez les invertébrés.* 1er Mémoire : *Réactions d'immunité chez* Sipunculus Nudus *(24 planches hors texte en couleurs)*..... 7

D. COMBIESCO. — *Recherches expérimentales sur l'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse*..... 81

M. CIUCA et I. ALEXA. — *Traitement de la Malaria par le Stovarsol* 105

C. IONESCO-MIHAIESTI et A. DAMBOVICEANU. — *Recherches sur la résistance des toxines diphtérique et dysentérique aux différentes concentrations en ions hydrogènes*..... 115

C.-I. PARHON, V. MARZA et M. CAHANE. — *Sur l'influence du système nerveux et des glandes endocrines sur la teneur en eau des organes et tissus* 123

D. DANIELOPOLU et R. RADOVICI. — *Mouvements du train postérieur provoqués par l'excitation du bout périphérique du vague après section de la moelle dorsale* 145

I. NICOLAU. — *Races de méningocoques et sérothérapie antiméningococcique en Roumanie* 155

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

IMP. INST. SN.
— LIBRARY —
2 0 FEB 1936
SERIAL Eu. H52
SEPARATE

Tome I. — N° 2

Juin 1928

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Publication périodique trimestrielle

SOMMAIRE DU N° 2

Juin 1928

MÉMOIRES ORIGINAUX

I. MOLDOVAN. — *Apparition d'une substance désensibilisante et hypotensive dans l'organisme après blocage du système réticulo-endothélial* 167

C. IONESCO-MIHAIESTI, D. COMBIESCO, P. CONDREA et G. CALALB. — *Recherches sur le titrage du sérum antidysentérique* 179

G. CALALB. — *Recherches sur les bacilles dysentériques isolés en Roumanie* 243

M. CIUCA, V. CRACIUNESCU et J. BAHOV. — *Traitement de la scarlatine par le sérum de convalescents* 271

S. LONGHIN et C. AURIAN. — *Enquête épidémiologique sur la poliomyélite dans un département contaminé en Roumanie* 309

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

IMP. INST. ENT.
— LIBRARY —
2 0 FEB 1930
Eu. 452
SEPARATE

Tome I. — N° 3

Septembre 1928

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Publication périodique trimestrielle

SOMMAIRE DU N° 3

Septembre 1928

MÉMOIRES ORIGINAUX

D. COMBIESCO. — *Recherches expérimentales sur l'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse*..... 341

M. NASTA et M. BLECHMANN. — *Contributions à l'étude de l'action des rayons ultra-violets sur la tuberculose expérimentale du cobaye*..... 353

M. MARBE et P. EPUREANU. — *Sur l'action anti-anaphylactique de certaines eaux minérales naturelles*..... 379

M. CIUCA, I. BALTEANU et A. THOMA. — *Sur la spécificité de la réaction de Dick*..... 415

I. NICOLAU et M^lle^ O. ANTINESCU. — *Recherches sur le titre de la lipase sanguine dans différentes formes de tuberculose*..... 437

EXD.

Contents

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

IMP. INST. ENT.
— LIBRARY —
20 FEB 1936
SER. — Eu. 452
SEPARATE

Tome I. — N° 4

Décembre 1928

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Publication périodique trimestrielle

SOMMAIRE DU N° 4

Décembre 1928

MÉMOIRES ORIGINAUX

Cornelia POPESCO-COMBIESCO. — *Recherches sur le rôle des plaquettes sanguines dans l'immunité. La fonction antixénique des plaquettes.* (Premier Mémoire.) 453

G. MARINESCO. — *Nouvelles recherches sur les plaques séniles* . .
Eugénie SORU. — *Recherches sur le signe de la charge électrique des bactéries et des cellules défensives à l'état normal et dans l'immunité.* (Premier Mémoire : *Bactéries et plaquettes.*) 485

G. MARINESCO. — *Nouvelles recherches sur les plaques séniles* . . . 503

I. CIUREA. — *Rossicotrema donicum Skrjabin et Lindtrop et sa métacercaire* 531

M. NASTA. — *Recherches sur le mécanisme de l'immunité dans la tuberculose* 542

M. CIUCA, L. BALLIF et M. VIERU. — *Etudes sur l'immunité dans* le paludisme 577

TABLE DES MATIÈRES DU TOME I.